

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

BORIS EPHRUSSI

Licencié ès Sciences Naturelles

Assistant à l'Institut de Biologie physico-chimique (Paris)

**1^{re} THÈSE. — Contribution à l'analyse des premiers stades
du développement de l'œuf. Action de la température.**

Soutenue le

1932, devant la Commission d'examen

Président : M. CH. PEREZ

Examineurs { M. ROBERT-LEVY
M. MARCEL PRENANT

LIÈGE

H. VAILLANT-CARMANNE, S. A., IMP. DE L'ACADÉMIE

4, PLACE SAINT-MICHEL, 4

1932

5928





Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen :

M. C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyen honoraire :

M. M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires :

MM. H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
Emile PICARD.
Rémy PERRIER.

Professeurs :

MM. E. GOURSAT Analyse supérieure et algèbre supérieure.
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT ... Minéralogie.
P. PAINLEVÉ ... Mécanique analytique et mécanique céleste.
M. CAULLERY ... Zoologie (Évolution des êtres organisés).
Emile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
Gabriel BERTRAND. Chimie biologique.
Jean PERRIN Chimie physique.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
MM. G. URBAIN Chimie générale.
L. MARCHIS Aviation.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des transformations.
A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY .. Physique.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
P. PORTIER Physiologie comparée.
Charles PÉREZ ... Zoologie.
E. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD . Botanique.
Léon BERTRAND . Géologie structurale et géologie appliquée.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
G. JULIA Calcul différentiel et calcul intégral.
Paul MONTEL Mécanique rationnelle.

MM. V. AUGER.....	Chimie appliquée.
P. WINTREBERT...	Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ.....	Biologie maritime.
Eugène BLOCH	Physique théorique et physique céleste.
N.....	Etude des combustibles.
L. LUTAUD.....	Géographie physique et géologie dynamique.
Henri VILLAT ...	Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB	Géologie.
P. PASCAL	Chimie minérale.
Léon BRILLOUIN ..	Théories physiques.
E. ESCLANGON ...	Astronomie.
H. BÉNARD	Mécanique expérimentale des fluides.
C. MAUGUIN.....	Minéralogie.
L. BLARINGHEM ..	Botanique.
A. GIULLIERMOND ..	Botanique (P. C. N.).
A. DENJOY	Mathématiques générales.
A. DUFOUR	Physique (P. C. N.).
H. BÉGHIN	Mécanique physique et expérimentale.
E. PÉCHARD	Chimie (Enseig ^t P. C. N.).
A. GUILLET	Physique.
M. GUICHARD ...	Chimie minérale.
A. MICHEL-LÉVY ..	Pétrographie.
A. DEREIMS	Géologie.
H. MOUTON	Chimie physique.
L. DUNOYER	Optique appliquée.
M. JAVILLIER	Chimie biologique.
ROBERT-LÉVY	Zoologie.
A. DEBIERNE.....	Radioactivité.
A. DARMOIS	Physique.
G. BRUHAT.....	Physique.
F. PICARD	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
L. JOLEAUD	Paléontologie.
M. FRÉCHET	Calcul des Probabilités et Physiques mathématiques.
M ^{me} RAMART-LUCAS ...	Chimie organique.
MM. FOCH	Mécanique expérimentale des fluides.
PAUTHENIER	Physique (P. C. N.).
VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
De BROGLIE	Théories physiques.
LABROUSTE.....	Physique du Globe.
FREUNDLER	Chimie (P. C. N.).
PRENANT	Zoologie.
P. JOB	Chimie générale.
CHRÉTIEN	Optique appliquée.
BOHN	Zoologie (P. C. N.).
N.....	Chimie (P. C. N.).
COMBES	Sciences naturelles (P. C. N.).
GARNIER	Mécanique rationnelle.

Secrétaire :

M. A. PACAUD.

Secrétaire honoraire :

M. D. TOMBECK.

A la mémoire de
F. L. HENNEGUY,
Professeur au Collège de France
Membre de l'Institut.

En reconnaissance de la cordiale
et large hospitalité qu'il m'a
offerte dans son Laboratoire.

PRÉFACE

Le présent travail a été commencé sous la direction de M. Ch. Perez, Professeur à la Sorbonne, Directeur de la Station Biologique de Roscoff. M. Perez n'a jamais cessé de s'intéresser à mon travail et de me prodiguer ses précieux conseils. Je lui en exprime ici ma plus profonde et plus sincère reconnaissance. Je le remercie également d'avoir accepté la présidence de ma thèse.

Ce travail a été continué au Laboratoire d'Embryogénie Comparée du Collège de France, dirigé par M. le Professeur Fauré-Fremiet.

En M. Fauré-Fremiet, j'ai trouvé un Maître qui m'a guidé dans une direction nouvelle, en me laissant toute initiative, qui n'a jamais cessé de m'encourager et qui a bien voulu m'honorer de sa confiance en faisant de moi son collaborateur. Je lui exprime ici toute ma profonde gratitude.

La récolte du matériel m'a conduit deux fois au Laboratoire Arago à Banyuls-sur-Mer. Je remercie son Directeur, M. le Professeur Duboscq de m'y avoir si chaleureusement accueilli.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à la Direction de l'Institut de Biologie Physico-Chimique qui n'a jamais manqué l'occasion d'améliorer les conditions de mon travail.

Je me fais enfin un plaisir de remercier particulièrement le personnel de la Station Biologique de Roscoff du concours infiniment précieux qu'il m'a apporté par la récolte de mon matériel.

Contribution à l'analyse des premiers stades du développement de l'œuf. Action de la température.

PAR

BORIS EPHRUSSI

(Institut de Biologie physico-chimique, Paris)

(25 figures dans le texte, Planche I).

SOMMAIRE

INTRODUCTION.

CHAPITRE I. — *Composition chimique de l'œuf d'Oursin et ses variations au cours du développement.*

1. Technique.
 2. Résultats obtenus.
 - a) Eau.
 - b) Substances protéiques.
 - c) Hydrates de Carbone.
 - d) Substances grasses.
 - e) Cendres.
 3. Discussion.
- Résumé.

CHAPITRE II. — *Etude cytologique de l'action de l'élévation de la température sur l'œuf d'Oursin à différents moments de son développement.*

1. Résistance à la chaleur des œufs et des spermatozoïdes.
 2. Chronologie des stades.
 3. Action de la chaleur sur l'œuf vierge.
 4. Action de la chaleur sur l'œuf fécondé avant la mitose.
 5. Action de la chaleur pendant la kariokinèse.
 6. Cas spécial : formation des caryomérites.
 7. Réversibilité de l'arrêt du développement produit par l'action d'une température minima mortelle. ^{Sur}
 8. Action d'une température plus élevée ~~que~~ la mitose.
 - Appendice. Action du chloral hydraté et du KCN.
 9. Action de la chaleur sur le chondriome.
 10. Action de la chaleur sur le vacuome.
 11. Sensibilité de l'œuf à la chaleur aux différentes phases de la mitose.
- Résumé.

CHAPITRE III. — *Coefficients de température des processus biologiques. Coefficients de température des premiers stades du développement de l'œuf.*

- A. Vitesse des réactions chimiques et la loi de leurs variations en fonction de la température.
- B. Les coefficients de température en biologie.
- C. Les coefficients de température des différentes phases de la mitose.
 - 1. Coefficients de température du développement de l'œuf.
 - a) Historique.
 - b) Coefficients de température du développement de l'œuf d'Oursin entre la fécondation et le stade II et entre la fécondation et l'éclosion de la larve.
 - 2. Coefficients de température des différentes phases de la mitose. L'œuf d'Oursin (1^{re} série d'expériences).
 - 3. Suite (2^e série d'expériences).
 - 4. L'œuf d'*Ascaris megolacephala*.
 - 5. Comparaison des résultats précédents.

Résumé.

CHAPITRE IV. — *Les échanges respiratoires de l'œuf d'Oursin au cours de son développement à différentes températures.*

- 1. Méthode.
 - a) Détermination d'oxygène.
 - b) Précision des mesures.
 - c) Choix des stades.
- 2. Détermination de la consommation totale d'oxygène pendant le développement du stade II jusqu'à l'éclosion de la larve.
- 3. Détermination de la consommation d'oxygène pendant le développement de l'œuf jusqu'au stade II.
- 4. Les variations de l'intensité respiratoire au cours du développement.
- 5. Détermination du quotient respiratoire.
 - a) Détermination du CO₂.
 - b) Résultats expérimentaux.
- 6. Le coefficient de température des oxydations respiratoires.

Résumé.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

Introduction

Si nous connaissons déjà parfaitement les différents aspects de la cellule et de ses organites au cours de la division cellulaire ; si nous connaissons, avec une grande précision même, la succession de ces différentes images, il nous reste

beaucoup à apprendre sur la mécanique de la mitose et des premiers stades du développement de l'œuf, c'est-à-dire sur l'enchaînement causal des différents processus, dont la succession normale assure une évolution également normale de l'œuf. La période du travail analytique n'est donc encore point terminée dans ce domaine. Ajouter des données analytiques sur le rôle des différents organes cellulaires, sur l'engrenage des différents processus composant le mécanisme complexe de la segmentation, tel était le but que je me proposais en commençant ce travail.

Le problème étant posé de la sorte, deux préoccupations deviennent fort importantes : d'une part, le choix du matériel ; d'autre part, le choix de l'agent expérimental.

Mon choix de l'agent expérimental s'est arrêté sur les variations de la température pour les raisons suivantes : l'action de la température est très générale et elle intervient de deux manières différentes : d'une part, en modifiant la vitesse des phénomènes, d'autre part, en modifiant l'état des corps en jeu. Parmi ces deux actions, la première est susceptible d'une transcription quantitative et possède une signification physique précise. On pouvait espérer *à priori* que grâce à ce double effet l'action des variations de température permettrait un travail fin d'analyse, c'est-à-dire de dissociation.

Aussi bien pour l'étude des vitesses que pour celle des modifications d'état, il était nécessaire de s'adresser à un matériel dont l'évolution soit chronologiquement très régulière ; il était important d'autre part que l'on puisse se procurer des quantités importantes de ce matériel. L'œuf d'Oursin (*Paracentrotus lividus* Lk.) obéit parfaitement à ces deux conditions et c'est pourquoi je l'ai choisi comme objet principal de mes expériences. Quelques expériences sur l'œuf d'*Ascaris* viendront, dans le troisième chapitre, compléter les résultats obtenus sur l'œuf d'Oursin.

* * *

Malgré le très grand nombre de travaux faits sur l'œuf d'Oursin, qui ont fait de ce matériel un objet classique

d'études d'embryologie causale, la composition chimique de cet œuf n'a pas été étudiée avec précision jusqu'ici ; on ne s'étonnera donc pas si je fais précéder mon travail d'une courte étude chimique de mon matériel (chapitre I), faite en collaboration avec L. RAPKINE.

Le deuxième chapitre de ce travail contiendra les résultats de mes recherches cytologiques. Dans le troisième, j'exposerai mes recherches sur les coefficients de température du développement en général et du processus mitotique en particulier, et profiterai de cette occasion, pour revenir sur la valeur et la signification des coefficients de température des processus biologiques. Enfin, le quatrième chapitre sera consacré à l'étude des échanges respiratoires de l'œuf en développement et de leurs variations en fonction de la température.

* * *

Pour faciliter la lecture je n'adopte pas de principe unique pour l'exposé de la bibliographie : celle-ci sera citée tantôt au début des chapitres, tantôt au cours de la discussion des résultats expérimentaux.

Les figures placées dans le texte sont désignées par des chiffres romains, ceux de la planche par des chiffres arabes.

CHAPITRE I

La composition chimique de l'œuf d'Oursin et ses variations au cours du développement

Les seules données relatives à la composition chimique de l'œuf d'Oursin que nous avons pu réunir sont celles de PAGE, MATHEWS, WETZEL et MASING.

WETZEL (1907) trouve pour l'œuf vierge de *Paracentrotus lividus* la composition chimique suivante :

H ² O	77,4%		
Substances sèches	22,6%		
Graisses	4,3%	du	poids humide
N	1,6%	»	»
P ² O ⁵	0,47%	»	»
Cendres	2,2%	»	»

MASING (1910 et 1911) étudie particulièrement le phosphore nucléinique et l'azote purique. Enfin, MATHEWS (1913) constate l'absence de cholestérine chez l'œuf vierge d'*Asterias forbesii*, tandis que chez l'Oursin *Arbacia punctulata*, il en trouve une assez grande quantité. En plus, il trouve chez *Asterias forbesii* des phosphatides qui contiennent près de 10% de sucre réducteur.

PAGE (1927) a étudié quelques caractéristiques des extraits gras totaux des œufs d'*Arbacia punctulata* et de l'*Asterias forbesii*. Il trouve un indice d'iode égal à 146-148 et un indice de saponification égal à ± 606 pour les graisses de l'*Arbacia*, tandis que pour *Asterias* ces indices sont respectivement égaux à 110-115 et 318,8. Nous aurons l'occasion de revenir plus bas sur ces quelques renseignements donnés par PAGE.

Enfin, il sera intéressant de citer les chiffres qu'a fourni à DALCQ (1923) l'étude de la composition chimique des oocytes de l'Astérie (*Asterias glacialis*).

Eau	81,5%
Cendres	1,9%
Substances protéiques	11,82%
Extrait lipoïdique total (méthode de Kumagawa)	4,00%
Glycogène	0,02%

— — — — —
Total 99,24% du poids humide.

L'auteur lui-même fait remarquer que le chiffre 81,5% qu'il donne dans son tableau pour l'eau, doit être légèrement erroné par excès, car les œufs pesés devaient contenir une faible proportion d'eau interstitielle.

Pour la même raison, les chiffres donnés pour les autres constituants doivent être légèrement erronés, par défaut cette fois ; seulement, la quantité des cendres donnée par l'auteur doit être assez fortement faussée par excès, ce qui est dû à l'apport des sels de l'eau interstitielle.

Il nous a semblé intéressant de reprendre l'étude de la composition chimique de l'œuf d'Oursin.

Et comme de nombreux auteurs (LÆB, WARBURG, VLÈS, SHEARER, GRAY, RAPKINE, etc.) ont constaté que l'œuf d'Oursin devient, aussitôt après la fécondation, le siège d'oxydations intenses, il y avait lieu de supposer que les variations de sa composition chimique pourraient être décelées déjà au cours des premiers stades du développement, pendant lesquels l'œuf vit à ses propres dépens, sans aucun apport de substances alimentaires du milieu extérieur.

Nous avons donc étudié la composition chimique de l'œuf vierge de l'Oursin (*Paracentrotus lividus* Lk.) d'une part, et des larves de douze et quarante heures d'autre part. Les larves âgées de douze heures sont (à la température de 18°) des blastulas nageantes dans lesquelles on observe les débuts de la formation du mésenchyme ; celles de quarante heures sont de jeunes *Plutei*.

1. — TECHNIQUE

L'œuf vierge d'Oursin est entouré par une gangue gélatineuse qui se dissout dans l'eau de mer pendant les premières heures de la segmentation. Pour pouvoir comparer la constitution de l'œuf vierge à celle des larves, il fallait donc se débarrasser de cette gangue dans les lots d'œufs vierges destinés à l'analyse.

Le procédé que nous avons employé à cet effet était le suivant : l'eau de mer, contenant les œufs vierges lavés à plusieurs reprises, était brusquement acidifiée jusqu'à $\text{pH} = \pm 4$ par HCl dilué ; la gangue de l'œuf se dissout instantanément dans une telle eau de mer acidifiée. On pouvait ainsi, pour ne pas altérer les œufs, ramener l'eau de

mer à son pH initial en lui ajoutant du NaOH dilué, quelques secondes après l'addition de l'acide ; les œufs étaient ensuite lavés dans plusieurs volumes d'eau de mer et finalement fixés.

Pour obtenir un développement régulier d'une grande quantité de larves, les œufs fécondés étaient placés dans une série de barboteurs, dont l'aération était assurée par une trompe à eau. Le mouvement produit par le passage de l'air était suffisant pour empêcher la sédimentation des œufs, qui, comme on sait, rend le développement inégal par suite de l'asphyxie.

Pour pouvoir récolter la totalité des larves nageantes, on ajoutait dans l'eau de mer quelques centimètres cubes d'une solution de chloral hydraté à 2%.

Nous avons choisi comme unité de poids à laquelle seront rapportés les résultats de tous nos dosages, le gramme de substances sèches. Mais la détermination du poids sec d'un lot d'œufs (ou de larves) faite par la méthode ordinaire (dessiccation à 110°) est erronée par excès : dans les conditions d'expérience, les œufs contiennent toujours une forte proportion d'eau interstitielle ; on doit donc connaître la quantité de sels contenus dans cette eau et soustraire leur poids au chiffre de substances sèches ⁽¹⁾, pour obtenir une valeur correcte du poids sec. Mais, la connaissance de cette quantité de sel nécessite elle-même la connaissance de la quantité d'eau interstitielle.

Nous nous sommes servi, pour la détermination de la quantité de cette eau, d'une méthode qui nous a été indiquée par M. Georges TEISSIER.

On opère de la manière suivante : des œufs sont centrifugés jusqu'à ce qu'ils soient rassemblés en un culot compact et se touchent sans se déformer mutuellement, résultat d'ailleurs facile à obtenir avec une centrifugeuse à main. Le rapport du volume de l'eau interposée au volume des œufs

⁽¹⁾ La même correction doit être appliquée pour obtenir le poids réel des cendres.

étant indépendant du volume absolu de ces derniers, on détermine directement sur un modèle constitué par une éprouvette pleine de grains de plomb le volume d'eau contenu dans les interstices.

On trouve dans ces conditions que l'eau interstitielle constitue 36,5% du volume total, et, tenant compte des densités de l'eau de mer et des œufs d'Oursin (1,08 d'après VLÈS), ce résultat permet de calculer immédiatement qu'un culot de 10 grammes contient 6,6 grammes d'œufs et 3,4 grammes d'eau de mer (chiffre vraisemblablement très proche de la réalité). Ce même chiffre doit être applicable aux larves de douze heures qui sont également sphériques.

Le même problème appliqué à l'étude du *Pluteus* ne peut se traiter directement avec un modèle qu'on ne peut songer à réaliser. Mais on constate expérimentalement qu'un culot de 10 centimètres cubes d'œufs donne après développement et centrifugation des *Plutei* un culot de 14,3 centimètres cubes (1).

On constate d'autre part, par des mensurations micrométriques, que le *Pluteus* au stade considéré est assimilable à un tronc de pyramide avec un volume supérieur de 6% à celui de l'œuf. Tenant compte de ces chiffres, on peut calculer que l'eau interstitielle représente ici 53% du volume total. Si l'on admet que la densité des larves est voisine de l'unité, on peut prendre pour base de la correction que l'eau interstitielle forme aussi 53% du poids total du culot (poids humide brut).

(1) Ces expériences ont été conduites de la manière suivante : le volume d'une émulsion d'œufs vierges est amené à 200 centimètres cubes. En mélangeant tout le temps l'émulsion, pour empêcher la sédimentation des œufs, on aspire rapidement dans une pipette jaugée 50 centimètres cubes, échantillon sur lequel seront faites successivement les déterminations du volume du culot, du poids humide, du poids sec et du poids des cendres. Deux autres prélèvements égaux sont placés dans des barboteurs, dans chacun desquels est ajoutée une goutte de sperme. On empêche l'évaporation de l'eau en ajoutant au bout de la chaîne un barboteur contenant de l'eau de mer. La quantité totale de ces œufs est récoltée au bout de douze et quarante heures et traitée de la même manière que les œufs vierges.

Ce deuxième résultat offre une précision bien moindre que le premier en raison du nombre des données expérimentales qu'il suppose, l'une d'entre elles, évaluation du volume du *Pluteus*, étant particulièrement aléatoire.

2. — RÉSULTATS OBTENUS

a) *Eau*.— La détermination du poids humide et du poids sec, telle qu'elle est obtenue par la pesée du culot d'œufs centrifugés et séchés nous a fourni (après correction) les chiffres suivants :

	Substances sèches %	Eau %
Œufs vierges	22,7	77,3
Larves de 12 heures.....	22,7	77,3
Larves de 40 heures.....	21,2	78,8

b) *Substances protéiques*.— L'azote total a été déterminé par la méthode de KJELDHAL (minéralisation dans H^2SO^4 , avec $CuSO^4$ comme catalyseur) sur des œufs fixés à l'alcool. Les chiffres trouvés sont assez constants et donnent en moyenne :

10,7% du poids sec chez l'œuf vierge.

10,2% du poids sec chez la larve de 12 heures.

9,7% du poids sec chez la larve de 40 heures.

On obtient une valeur approchée du poids des substances protéiques en multipliant ces chiffres par le coefficient 6,25, ce qui donne :

66,88% du poids sec chez l'œuf vierge.

63,75% du poids sec chez la larve de 12 heures.

60,62% du poids sec chez la larve de 40 heures.

c) *Hydrates de carbone*. — *Glycogène* : Les œufs ont été conservés dans la lessive de potasse et le glycogène fut dosé par la méthode de BIERRY-GRUZEWSKA. Le glycogène est dosé d'après cette méthode à l'état de sucre réducteur ; il faut donc, pour obtenir le poids correct du glycogène, sous-

traire au chiffre trouvé expérimentalement le poids de l'eau d'hydrolyse.

Dans ces conditions, on trouve que le glycogène constitue :

- 5,13% du poids sec chez l'œuf vierge,
- 4,8 % du poids sec chez la larve de 12 heures,
- traces indosables chez les larves de 40 heures.

Sucre total : Les dosages de sucre total ont été faits après fixation dans H^2SO^4 à 2%. La préparation de la liqueur sucrée a été faite d'après la méthode de M^{me} RANDOIN et le dosage d'après celle de G. BERTRAND. Ici encore, les chiffres expérimentaux ont dû être corrigés de la manière indiquée dans le paragraphe précédent. Les chiffres suivants donnent les résultats ainsi obtenus :

	Sucre total p. 100 du poids se c	p. 100 du poids humide
Œuf vierge	5,43	1,36
Larve de 12 heures	5,46	1,35
Larve de 40 heures	3,4	0,72

d) Substances grasses.— Les dosages des substances grasses ont été effectués de deux manières différentes : soit après saponification totale dans la lessive de soude (méthode de KUMAGAWA-SUTO), soit après extraction à chaud par l'alcool dans l'appareil à déplacement de Kumagawa.

L'extrait gras total, obtenu après saponification dans la lessive de soude, constitue en moyenne :

- 21,2% du poids sec ou 4,81% du poids humide chez l'œuf vierge,
- 19,55% du poids sec ou 4,43% du poids humide chez la larve de 12 heures,
- 17,4% du poids sec ou 3,69% du poids humide chez la larve de 40 heures.

Par la méthode de KUMAGAWA (épuisement à chaud par

l'alcool d'œufs broyés avec du sulfate de soude anhydre), on trouve des chiffres supérieurs :

Œufs vierges	26,2% du poids sec.
Larves de 12 heures.....	25,2% du poids sec.
Larves de 40 heures.....	18,8% du poids sec.

Dans les deux cas, l'extrait gras total se présente comme une substance huileuse de couleur brune, liquide à la température ordinaire.

Nous avons ensuite ⁽¹⁾ séparé l'insaponifiable total ; pour ceci nous avons saponifié l'extrait gras total par la potasse alcoolique ; nous avons ensuite ramené le titre de l'alcool à 50° et extrait de cette solution l'insaponifiable total par l'éther de pétrole. Les acides gras passent pendant cette manipulation dans la partie aqueuse de la solution, où ils se trouvent à l'état de savons.

L'insaponifiable total, solide à la température ordinaire, constitue en moyenne :

- 15,7% de l'extrait gras total chez l'œuf vierge.
- 16,1% de l'extrait gras total chez la larve de 12 heures.
- 15,6% de l'extrait gras total chez la larve de 40 heures.

Rapporté à l'unité de substances sèches, l'insaponifiable total forme :

- 3,3% chez l'œuf vierge.
- 3,0% chez la larve de 12 heures.
- 2,7% chez la larve de 40 heures.

L'insaponifiable total est ensuite dissous sans l'alcool pour le dosage de la cholestérine et de l'insaponifiable X. (Une petite fraction de l'insaponifiable total n'est cependant pas soluble dans l'alcool ; nous la désignons provisoirement sous le nom « d'insaponifiable Y »). La cholestérine est précipitée par une solution alcoolique de digitonine à 1%, filtrée, lavée à l'alcool et l'éther, séchée et pesée.

(1) Tous les fractionnements décrits plus bas ont été faits sur l'extrait gras total provenant de la saponification par la lessive de soude.

L'insaponifiable X est estimé par différence.

Opérant de cette manière, nous avons trouvé que l'extrait gras total contient :

7,0% d'insaponifiable (X + Y) et 8,7% de cholestérine chez l'œuf vierge.

7,4% d'insaponifiable (X + Y) et 8,7% de cholestérine chez la larve de 12 heures.

7,5% d'insaponifiable (X + Y) et 8,1% de cholestérine chez la larve de 40 heures.

Ces mêmes substances rapportées au poids sec de l'œuf forment :

	Insaponifiable X + Y p. 100	Cholestérine p. 100
Chez l'œuf vierge	1,5	1,8
Chez la larve de 12 heures	1,3	1,65
Chez la larve de 40 heures	1,3	1,4

Les acides gras, estimés par différence, donnent les chiffres suivants :

	p. 100 de l'extrait gras total	p. 100 du poids sec
Œuf vierge	84,3	17,85
Larves de 12 heures.....	83,8	16,35
Larves de 40 heures.....	84,1	14,6

e) *Cendres.* — La quantité de cendres a été déterminée par incinération des substances sèches qui ont servi d'abord à la détermination du rapport $\frac{\text{poids humide}}{\text{poids sec}}$. Corrigés de la manière indiquée plus haut, les poids des cendres sont :

1,5% du poids sec ou 0,34% du poids humide chez l'œuf vierge.

9,1% du poids sec ou 2,06% du poids humide chez la larve de 12 heures.

16,8% du poids sec ou 3,56% du poids humide chez la larve de 40 heures.

3. — DISCUSSION

Nous résumons dans les deux tableaux ci-dessous la composition globale des œufs aux trois stades du développement étudiés. Dans le premier, les quantités des principales substances dosées sont calculées en % du poids sec, dans le second, elles sont rapportées au poids humide :

TABLEAU I

	Œufs vierges p. 100	Larves de 12 h. p. 100	Larves de 40 h. p. 100
Substances protéiques ($N \times 6,25$).	66,88	63,75	60,62
Sucre total	5,43	5,46	3,4
Graisses totales	21,2	19,55	17,4
Cendres	1,5	9,1	16,8
Totaux	95,01	97,86	98,22

TABLEAU II

	Œufs vierges p. 100	Larves de 12 h. p. 100	Larves de 40 h. p. 100
Eau	77,3	77,3	78,8
Substances protéiques	15,18	14,47	12,85
Sucre total	1,36	1,35	0,72
Graisses	4,81	4,43	3,69
Cendres	0,34	2,06	3,56
Totaux	98,99	99,61	99,62

Nous avons décrit plus haut une série d'expériences par lesquelles nous avons cherché à mettre en évidence les variations possibles du poids absolu des œufs en dévelop-

pement ; nous reproduisons, ci-dessous, une série de chiffres donnant le pourcentage de la variation du poids total (humide) ainsi que du poids sec, d'une quantité constante de larves, le poids de cette même quantité d'œufs vierges étant pris pour unité :

	Variation du poids humide p. 100	Variation du poids sec p. 100
12 heures	+ 8,8	+ 9
40 heures	— 1,4	+ 5,6

On voit, d'après ces chiffres, que le poids sec, ainsi que le poids humide, augmente très nettement pendant les premières douze heures du développement ; l'augmentation du poids absolu des substances sèches s'explique ici très vraisemblablement par l'augmentation de la quantité des substances minérales (¹).

On constate, en effet, en même temps une forte augmentation de la quantité des cendres. En même temps une absorption d'eau doit avoir lieu, car le poids total de la larve augmente et le pourcentage de l'eau protoplasmique ne varie pas.

De la douzième à la quarantième heure du développement, la quantité de cendres est encore très fortement augmentée, et il est difficile d'interpréter la baisse du poids absolu des larves (ou de leurs substances sèches) pendant cette période du développement.

On voit d'après les tableaux I et II que le rapport $\frac{\text{poids humide}}{\text{poids sec}}$ n'est modifié que très légèrement (en faveur du premier) chez les larves de 40 heures.

La quantité de substances protéiques diminue progressivement aux stades du développement étudiés.

La quantité de sucre total reste stationnaire pendant les

(¹) Rappelons à ce sujet que la formation du mésenchyme qui a lieu dans la larve vers la douzième heure du développement coïncide, d'après RAPKINE et PRENANT, avec les débuts des phénomènes qui conduiront à la formation du squelette.

premières douze heures du développement ; vers la quarantième heure on constate au contraire une forte diminution de sa quantité.

Comme nous avons vu plus haut, la quantité de glycogène diminue au contraire dès le début du développement (larves de douze heures). Chez les larves de quarante heures, on n'en trouve plus que des traces.

Cette constatation permet de penser que le glycogène n'est utilisé qu'après transformation en sucre réducteur.

Le tableau ci-dessous, qui montre la diminution du pourcentage du glycogène et l'augmentation du pourcentage de sucre réducteur dans les hydrates de carbone totaux, illustre très nettement ce fait.

Composition des hydrates de carbone totaux	Œufs vierges p. 100	Larves de 12 h. p. 100	Larves de 40 h. p. 100
Sucre réducteur	6	18,3	100
Glycogène	94	81,7	0

La quantité de substances grasses contenue dans l'œuf diminue progressivement au cours du développement. Cette diminution porte sur la cholestérine et surtout sur les acides gras. Seule la quantité d'insaponifiable ($X + Y$) ne change pas appréciablement.

Nous ne pouvons pas préciser la nature des acides gras : les quelques essais de détermination des indices de saponification et de neutralisation ne nous ont pas fourni de résultats suffisamment concordants. Nous avons obtenu des résultats satisfaisants seulement pour les indices d'iode ; les chiffres trouvés sont : 150 pour les acides gras de l'œuf vierge et 140 pour ceux des larves de 12 et 40 heures. Ces chiffres sont en accord avec ceux (146-148) que PAGE donne pour les acides gras de l'œuf d'une autre espèce d'Oursin, l'*Arbacia punctulata*.

RÉSUMÉ

L'étude de la composition des œufs vierges et des larves de douze ⁽¹⁾ et quarante heures ⁽²⁾ de l'Oursin montre que :

1^o Le poids humide ainsi que le poids sec de l'œuf semblent augmenter légèrement pendant les premières douze heures du développement, ce qui peut s'expliquer vraisemblablement par l'entrée des substances minérales qui serviront à la formation du squelette et dont la quantité augmente jusqu'à la quarantième heure (cendres). Entre la douzième et la quarantième heure du développement le poids des larves semble diminuer légèrement, tout en restant légèrement supérieur au poids initial.

2^o Le rapport $\frac{\text{poids humide}}{\text{poids sec}}$ n'est modifié que très faiblement entre la douzième et la quarantième heure du développement.

3^o La quantité de matières protéiques diminue progressivement aux stades du développement étudiés.

4^o Il en est de même pour les graisses, dont la perte semble se porter principalement sur la cholestérine et les acides gras.

5^o Le glycogène se transforme régulièrement au cours du développement en sucre réducteur ; la quantité totale des hydrates de carbone diminue entre la douzième heure et la quarantième heure du développement.

CHAPITRE II

**Etude cytologique de l'action de l'élévation
de la température sur l'œuf d'Oursin
à différents moments de son développement**

Je vais exposer dans ce chapitre les résultats de mes recherches cytologiques concernant l'action de la chaleur

⁽¹⁾ Blastulas nageantes, au début de la gastrulation.

⁽²⁾ *Pluteus*.

sur les différents constituants de l'œuf : protoplasme, noyau, figure achromatique, etc. L'œuf d'Oursin sera étudié à ce point de vue à des stades différents de son évolution, entre la fécondation et la première division de segmentation. Ceci me permettra, à la fin de ce chapitre, ayant pris connaissance du mode d'action de la température sur les différents constituants de l'œuf et de leur sensibilité spécifique à ce facteur, d'étudier les variations de la sensibilité à la chaleur de l'ensemble du système pris à différents moments de son évolution.

L'action de la température sur les phénomènes précoces du développement de l'œuf n'a été étudiée jusqu'ici que très superficiellement. Les travaux déjà anciens de O. HERTWIG (1894), R. et O. HERTWIG (1887), SCHULTZE (1895), DRIESCH (1893), etc., portent presque uniquement sur les modifications observées sur le vivant et ne contiennent que très peu de données cytologiques précises. Tous ces auteurs ont observé l'effet accélérateur de l'élévation de la température et ont fait quelques observations sur les anomalies du développement produit par une température trop élevée ou trop basse, ainsi que sur leur réversibilité. En particulier, R. et O. HERTWIG ont déjà noté quelques effets intéressants du chauffage des œufs vierges : polyspermie, ralentissement des réactions de l'œuf, etc. Mais ici encore les données sont très superficielles : les œufs étaient fixés à des intervalles trop espacés (30 minutes, 1 heure) et les colorations étaient faites *in toto*. Je ne m'arrêterai donc pas plus longuement sur la description de ces faits ainsi que sur les résultats obtenus par J. BURY (1913) par l'étude de l'action de la température de 0°, pour les mentionner plus tard, à l'occasion d'observations analogues dans mes propres expériences. Je ferai de même pour le travail de E. FAURÉ-FREMIET relatif à l'œuf de *Sabellaria alveolata*.

* * *

Avant de passer à la description de mes expériences, je donnerai quelques renseignements sur la résistance des œufs

à la chaleur et sur la chronologie des principaux stades d'évolution de l'œuf fécondé.

1. — RÉSISTANCE A LA CHALEUR DES ŒUFS ET DES SPERMATOZOÏDES

Si l'on chauffe du sperme dilué dans de l'eau de mer, pendant différents temps, à des températures de plus en plus élevées, et si l'on féconde, au bout de ces différents temps, par ce sperme des œufs vierges normaux, on constate que la durée pendant laquelle les spermatozoïdes conservent le pouvoir d'activer l'œuf devient de plus en plus courte à mesure qu'on monte dans l'échelle des températures ⁽¹⁾.

Si on laisse, ensuite, les œufs ainsi fécondés se segmenter, on constate que leur développement reste normal, à quelque température qu'ait été porté le sperme, pendant le temps maximum possible. Ainsi, par exemple, chauffant du sperme dilué pendant une heure à 33°5, on constate que la grande majorité des spermatozoïdes sont morts. Les quelques survivants, fécondant des œufs normaux, provoquent la formation d'une membrane de fécondation et, par la suite, un développement tout à fait normal. Entre les deux il n'y a pas d'intermédiaires.

Il est donc impossible de provoquer des anomalies du développement de l'œuf par l'action de la chaleur sur le spermatozoïde. J. BURY (1913) a démontré le même fait en ce qui concerne l'action de la température de 0° ; on sait, au contraire, que cela est possible en intervenant par d'autres agents, tels que l'irradiation (HERTWIG, 1911, 1912), la trypaflavine (DALCQ, 1927), etc.

Si on fait l'expérience inverse, c'est-à-dire si on féconde par du sperme normal des œufs chauffés avant la fécondation pendant différents temps et à des températures différentes, on constate que la durée pendant laquelle les œufs

(1) Je compare ici la sensibilité à la chaleur des œufs et des spermatozoïdes ; la connaissance de la sensibilité de ces derniers sera utile pour l'interprétation des résultats cytologiques.

continuent à former des membranes de fécondation varie elle aussi d'une manière inversement proportionnelle à la température de chauffage mais que :

1^o A une même température l'œuf perd beaucoup plus vite la faculté de former la membrane de fécondation, que le spermatozoïde ne perd celle de provoquer cette formation.

2^o Les courbes des pourcentages de la formation des membranes de fécondation et celle des développements (ou des développements normaux) ne coïncident pas : l'œuf se révèle comme encore plus sensible à l'action de la chaleur quand on considère son pouvoir de se développer au lieu de considérer sa faculté de soulever la membrane de fécondation.

Le chauffage des œufs produit donc, dans l'ordre indiqué ci-dessous, les phénomènes suivants :

- a) Anomalies de la segmentation.
- b) Perte du pouvoir de se segmenter.
- c) Perte du pouvoir de former la membrane de fécondation.

Le tableau ci-dessous permet de voir très clairement la succession de ces différents degrés d'altération et de comparer la sensibilité de l'œuf à celle du spermatozoïde :

T°	Temps de chauffage nécessaire pour tuer le sperme	Les membranes ne sont plus formées après chauffage de	Les œufs se divisent :		Les Gastrulas se forment encore après un chauffage de
			anormalement encore après un chauffage de	normalement encore après un chauffage de	
31°	170 min.	150 min.	70 min.	20 min.	15 min.
33°,5	70 min.	30 min.	10 min.	—	—

Pour un œuf, plongé dans une eau de mer chaude dès la

fécondation, la limite de température compatible avec un développement normal, doit être fixée à 27°C . Cette limite varie d'ailleurs assez fortement selon le degré de maturité des œufs et selon les années. Pendant les années successives où j'ai travaillé à Roscoff sur l'œuf d'Oursin, j'ai observé de fortes variations de cette température limite : ainsi en 1924, 1925 et 1927 j'obtenais de très bons développements à 28° ; en 1931, déjà à 26°C , dans la majorité des cas, les œufs montraient à la première division quelques irrégularités, qui se régularisaient d'ailleurs par la suite, même chez des œufs maintenus au delà de ce stade à la même température.

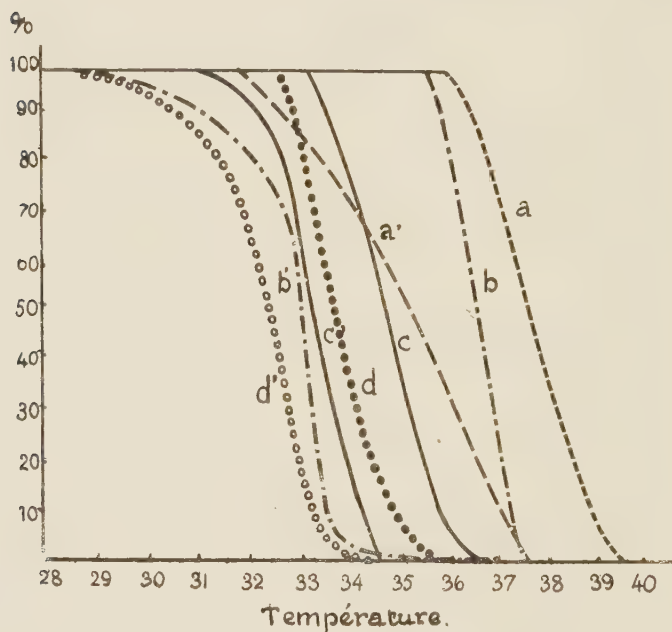


Fig. I. — (D'après G. Achard). % de membranes et de stades II en fonction du temps et de la température de chauffage.

----- 3 minutes de chauffage : a % de membranes, a' % de stades II.

-.-.-.-.- 10 minutes de chauffage : b % de membranes, b' % de stade II.

———— 15 minutes de chauffage : c % de membranes, c' % de stade II.

+++++ 25 minutes de chauffage : d % de membranes, d' % de stade II.

La partie expérimentale de mon travail a toujours été faite pendant la période de pleine maturité des Oursins, qui s'étend, à Roscoff, de la fin du mois de juin à la fin du mois d'août ; je n'ai pu constater, dans cet intervalle de temps, de variations *constantes et régulières* ni dans la sensibilité des œufs à la chaleur, ni dans la vitesse de leur développement (à température égale). De telles variations saisonnières semblent pourtant exister d'après SVEN HORSTADIUS (1925), chez les Oursins (*Paracentrotus lividus* Lk.) de Naples, dont la maturité s'étend sur l'année tout entière. Nous aurons d'ailleurs à revenir sur ce travail de HORSTADIUS qui nous intéressera à un autre point de vue ⁽¹⁾.

M^{lle} ACHARD (1925) a étudié avec beaucoup de soin les durées pendant lesquelles les œufs résistent à différentes températures ; je reproduis ci-dessus un des graphiques (fig. I) extrait de son mémoire, qui confirme, en outre, ce que je viens de dire plus haut au sujet de la succession des différentes anomalies.

2. — CHRONOLOGIE DES STADES ⁽²⁾.

Dans mes expériences, à la description desquelles je vais passer maintenant, les œufs se développaient toujours à la température du laboratoire, soit en moyenne 18° C., jusqu'au moment où je les plongeais dans l'eau chaude. Le tableau ci-dessous donne la chronologie des quelques principaux

85

(1) Je donne plus bas (p. 86) 2 courbes représentant la vitesse de segmentation des œufs en fonction de la température. L'une d'elles a été obtenue en 1927, l'autre en 1931. On verra que la vitesse de segmentation a été différente dans les 2 cas. Sans doute ~~(il y a une modification de la vitesse de segmentation est-elle en relation avec la modification de la résistance à la chaleur que j'ai signalée plus haut. Je ne puis pour le moment m'exprimer sur les causes de ces variations ; je voudrais seulement souligner qu'il ne s'agit point là de variations saisonnières régulières, comparables à celles signalées par HORSTADIUS.~~

(2) Les durées indiquées dans ce paragraphe ont été établies en 1924-1926 et concernent les œufs sur lesquels a été effectuée l'étude cytologique.

stades d'évolution de l'œuf fécondé à 18,5° (les temps sont indiqués en minutes à partir de la fécondation) :

Copulation des pronuclei	18 minutes
Disparition de la membrane nucléaire ..	48 »
Constitution de la plaque équatoriale ...	52 »
Anaphase.....	59-65 »
Etranglement	71 »
St. II. Reconstitution des noyaux	74-76 »

3. — ACTION DE LA CHALEUR SUR L'ŒUF VIERGE

L'étude de l'action de la chaleur sur l'œuf vierge a été faite sur des coupes, après fixation. Comme partout (sauf indication spéciale), les fixations étaient faites au liquide de Bouin et le matériel, coupé à 6-7 μ , après inclusion à la paraffine dans des tubes Caullery-Chappelier, était coloré à l'hématoxyline au fer (Regaud).

L'expérience est faite de la façon suivante :

Les œufs d'une femelle bien mûre sont lavés à plusieurs reprises dans un litre d'eau de mer, puis un très petit lot de ces œufs est placé dans un tube Borrel fermé, contenant de l'eau de mer et placé depuis quelque temps à l'étuve à 32°. L'introduction d'un petit volume d'œufs ne modifie pas sensiblement la température de l'eau.

Les œufs restent à l'étuve 10 minutes, puis tout le contenu du tube est versé dans un grand récipient contenant de l'eau de mer à la température de laboratoire (18°), de sorte que le refroidissement est instantané. Un petit lot de ces œufs est fixé immédiatement, le reste fécondé par du sperme dilué. Des petits lots de ces œufs fécondés sont fixés ensuite à des intervalles réguliers (de 5 à 10 minutes).

Les œufs fixés à la sortie de l'étuve ne montrent que peu de modifications par rapport aux témoins : leur cytoplasme, comme leur noyau, ne semble modifié en rien ; comme normalement le cytoplasme semble homogène, le noyau vide. Seulement, la quantité de « chromatine cytoplasmique », très faible chez les œufs vierges normaux (et

chez les témoins), semble fortement augmentée ⁽¹⁾.

J. BURY a observé une pareille augmentation de la quantité de grains de chromatine cytoplasmique chez les œufs vierges traités par la température de 0°. L'auteur met ce phénomène en relation avec l'émigration dans le cytoplasme de la chromatine nucléaire, qu'il observe chez les mêmes œufs. J'ai également observé l'accumulation de grains chromatiques au contact de la membrane nucléaire, mais il m'est impossible d'affirmer l'origine nucléaire de cette formation.

La vitesse avec laquelle se produit l'augmentation de la quantité de grains chromatiques dans le cas des œufs chauffés me semble rendre peu probable l'hypothèse d'après laquelle cette augmentation se ferait aux dépens de la chromatine émigrée du noyau. A mon avis, cela signifie plutôt, que le protoplasme est riche en substance chromatique à l'état diffus, en particulier dans la région péri-nucléaire, et que, sous l'action de la chaleur, cette substance passe à l'état d'éléments figurés. Je pense que la même explication s'applique au cas des œufs traités par le froid (BURY).

D'après J. BURY, les grains chromatiques disparaissent chez les œufs refroidis aussitôt après la fécondation. Je parlerai plus bas d'observations analogues. Il s'agit donc ici très nettement d'un changement d'état réversible.

Les œufs dont je viens de décrire les modifications semblent réagir normalement à la fécondation : la membrane de fécondation se soulève rapidement et est de dimensions normales.

Cependant, sur les coupes d'œufs fixées 15 minutes après la fécondation, on voit que la grande majorité, presque la totalité, des œufs sont polyspermiqes (confirmation de R.

⁽¹⁾ En employant le terme « chromatine cytoplasmique » je ne veux préjuger en rien la nature chimique de cette substance. Ce terme, employé déjà par BURY, DANTCHACOFF, puis BRACHET, signifie seulement que les grains en question présentent des affinités tinctoriales semblables à celles de la chromatine nucléaire.

et O. HERTWIG). Les têtes des spermatozoïdes pénétrés semblent gonflées beaucoup plus que d'ordinaire, de sorte que l'on distingue avec une netteté particulière la partie chromosomiale dans le pronucléus mâle. L'aster spermatique ne présente rien de particulier, si ce n'est la lenteur avec laquelle il se développe : comparé à l'aster spermatique des témoins (œufs du même lot, non chauffés, et fécondés en même temps), son développement semble très nettement retardé. De même, la migration du spermatozoïde fécondant de la périphérie de l'œuf vers le pronucléus ♀ est très fortement ralentie. On trouve, en effet, que dans les œufs fixés 30 minutes après la fécondation, la copulation des pronucléi n'est pas encore faite. Beaucoup de têtes spermatiques sont encore à mi-chemin, tandis que chez les œufs normaux la copulation des pronucléi serait faite depuis longtemps ⁽¹⁾.

On constate, en somme, un retard dans l'évolution du spermatozoïde, phénomène déjà mentionné par R. et O. HERTWIG.

Ce phénomène donne, me semble-t-il, la clef pour la compréhension de la polyspermie chez l'œuf vierge chauffé. La membrane de fécondation se formant d'une façon tout à fait normale, une autre circonstance doit intervenir pour assurer la possibilité de pénétration de spermatozoïdes surnuméraires. Je pense que le développement retardé de *l'énergide spermatique* (BRACHET 1917), peut être considéré comme cause de la polyspermie. Cette explication me semble également applicable à la polyspermie observée par J. BURY chez l'œuf d'Oursin soumis à l'action du froid.

La copulation des pronucléi chez les œufs provenant de l'expérience en question se fait environ 1 heure après la fécondation. Ici encore, on observe le même ralentissement que subissent tous les autres processus : contrairement à ce qui a lieu dans les conditions normales, chez les œufs chauffés le mélange de la substance des deux pronucléi se fait avec

(1) Voir le tableau de chronologie des stades, p. 22.

lenteur : on distingue pendant les 25 minutes suivantes la chromatine du pronucléus ♂ sous forme bien individualisée, condensée à l'un des pôles de l'amphicaryon.

1 h. 25 min. après la fécondation apparaissent, dans la majorité des œufs, des mitoses. La plupart de celles-ci sont polycentriques, mais la polycentrie est toujours causée par l'intervention d'un ou de plusieurs asters spermatiques ; elle n'est jamais due à des cytasters.

En même temps que les mitoses s'installent dans les œufs, les grains de chromatine cytoplasmique disparaissent brusquement.

La figure mitotique, abstraction faite de la polycentrie, est normale. Les chromosomes sont bien constitués et régulièrement disposés sur les fuseaux. A l'anaphase, le matériel chromatique est réparti en 2 à 6 groupes, selon la quantité de centres. La reconstitution des noyaux n'a rien de particulier.

La plasmodiérèse est en retard sur la division nucléaire, qui, elle aussi, est retardée considérablement. Au moment de la reconstitution des noyaux (2 heures environ après la fécondation), on est en présence d'œufs indivis, contenant chacun de 2 à 6 noyaux. Le cloisonnement cytoplasmique ne se fait dans la majorité des œufs que vers la fin de la troisième heure après la fécondation. Elle se fait à la fois en deux ou plusieurs blastomères.

Les divisions ultérieures de ces œufs sont normales. Les lots conservés de cette même expérience ont donné, en fin de développement, des blastulas, des gastrulas et des *Plutei* normaux.

Le bon développement de ces larves montre que la température à laquelle ont été soumis les œufs (32°), appartient encore à la zone des températures minima-mortelles, c'est-à-dire à la zone des températures dont une courte action ne produit dans l'œuf que des modifications réversibles ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Cette expérience a été faite à Banyuls sur mer en 1924 alors que j'obtenais encore de bons développements à 28° C.

Mais la réversibilité de ces modifications n'est pas immédiate ; elle est, au contraire, lente, ce qui est prouvé par le fait que les anomalies dans le développement des œufs, que je viens de décrire, ont été observées après retour dans l'eau à 18° C. Ceci explique également les observations de ACHARD (1925), d'après lesquelles on obtient de meilleurs développements si, avant de les féconder, on conserve les œufs chauffés pendant un certain temps à la température du laboratoire.

Dans mon expérience, comme dans certaines expériences de J. BURY, la fécondation était faite après retour à la température du laboratoire. Si, par conséquent, nous avons observé des anomalies dans l'évolution du spermatozoïde qui n'a subi aucun traitement préalable, nous devons tirer de ce fait la conclusion que, l'évolution de ce spermatozoïde est entièrement conditionnée par l'état de l'ooplasme.

Le gonflement exagéré de la tête du spermatozoïde permet en outre de voir avec une netteté toute particulière que le rôle des chromosomes, gardant un aspect parfaitement normal, est tout à fait secondaire dans le processus de formation du pronucléus ♂. C'est là une conclusion à laquelle est déjà arrivé DALCQ (1931), à la suite de son étude sur la fécondation des œufs de Grenouille par le sperme trypaflaviné ; DALCQ écrit notamment : « Il doit donc y avoir, sur le spermatozoïde, une couche corticale qui est l'élément vraiment responsable de l'apparition du suc hyalin du pronucléus et par conséquent de la membrane nucléaire ».

C'est donc l'état du protoplasme ovulaire qui est atteint par la chaleur d'une manière non immédiatement réversible.

Le ralentissement de la migration du spermatozoïde, la lenteur avec laquelle se développe l'aster spermatique ; même la faiblesse de l'énergide spermatique, sont autant de phénomènes conditionnés par l'état spécial du protoplasme, qui a été créé par le chauffage.

On peut pousser ces conclusions encore plus loin en disant

que c'est justement la propriété du protoplasme conditionnant l'évolution nucléaire qui est altérée, puisque nous avons vu avec quelle lenteur se fait le mélange des chromatines lors de la copulation des pronucléi et puisque le moment de l'installation des mitoses est fortement retardé ; ce n'est cependant pas le noyau lui-même qui est altéré, puisque les mitoses ne présentent pas d'autres troubles que ceux qui leur sont imposés par la présence de spermatozoïdes surnuméraires.

Je viens de dire que c'est la propriété du protoplasme conditionnant l'évolution nucléaire qui est altérée par la chaleur. L'expérience de chauffage des œufs vierges permet, en outre, de dissocier ce mécanisme d'un autre : celui qui régit la division du cytoplasme ; en effet, dans l'expérience décrite, la division nucléaire est en retard, mais elle est normale, et cependant, elle n'est pas suivie de plasmodiérèse. Ceci constitue donc une nouvelle preuve de l'indépendance de la caryocinèse et de la plasmodiérèse, indépendance qui a déjà été mise en évidence par plusieurs auteurs, et en particulier, sur l'œuf d'Oursin sous l'action du chauffage, par DRIESCH (1893).

Le protoplasme, en dernière analyse, se révèle donc chez l'œuf vierge comme beaucoup plus sensible aux températures élevées que le noyau. Cette conclusion a été confirmée récemment par SVEN HORSTADIUS (1925), dont le travail, contenant en outre la confirmation d'une grande partie de mes résultats, a paru après la publication de mes notes préliminaires.

4. — ACTION DE LA CHALEUR SUR L'ŒUF

AVANT LA MITOSE

L'action d'une température minima-mortelle sur l'œuf qui vient d'être fécondé et de former la membrane de fécondation, présente, à côté de quelques analogies avec l'action sur l'œuf vierge, quelques particularités intéressantes. L'expérience a été faite de la manière suivante :

des œufs, fécondés depuis 2 à 3 minutes, ayant soulevé leurs membranes de fécondation, ont été transportés dans l'eau de mer chauffée au préalable à 31° C. De temps en temps j'en prélevais de petits lots pour fixation ; au bout d'un séjour de 30 minutes dans l'eau chaude, le reste des œufs était rapidement refroidi ; j'en prélevais également de temps en temps de petits lots pour suivre leur évolution.

Comme chez l'œuf vierge chauffé, la migration du spermatozoïde est considérablement ralentie chez ces œufs. Tandis que, chez les témoins, la copulation des pronucléi se fait au bout de 20 minutes environ, chez une grande partie des œufs chauffés elle ne sera accomplie que 45 à 50 minutes après la fécondation, c'est-à-dire déjà après retour des œufs dans l'eau froide. De même qu'après chauffage de l'œuf vierge, on observe ici un ralentissement de l'évolution du spermatozoïde et de l'aster spermatique. Le mélange des chromatines ♂ et ♀ est ralenti également : comme chez l'œuf vierge, on distingue très nettement dans l'amphicaryon l'amas de chromatine spermatique condensé à l'une des extrémités du noyau.

Avant ou pendant l'apparition de l'aster spermatique, on remarque l'apparition d'autres irradiances, très fines, qui occupent un espace circulaire, à la périphérie de l'œuf (fig. 1). Ces irradiances sont sans aucun rapport avec l'aster spermatique. Elles se forment tantôt à l'extérieur, tantôt à l'intérieur par rapport au spermatozoïde pénétré et, sur certaines préparations, on voit très nettement la tête spermatique avec son aster au moment où elle traverse le « monaster » de l'œuf.

Cette apparition d'un monaster, indépendant de l'aster spermatique, au sein du protoplasme, doit incontestablement être considérée comme une expression de l'activité propre de l'œuf, c'est-à-dire comme un début de parténogénèse. Certains auteurs (LILLIE, 1908-1915 ; FAURÉ-FRÉMIET, 1924) ont obtenu, en effet, par l'action de la chaleur, des débuts d'activation des œufs. La température employée dans mon expérience semble avoir été insuffi-

sante pour produire, à elle seule, un tel effet. L'activation est probablement facilitée par la pénétration du spermatozoïde, c'est-à-dire après le soulèvement de la membrane (mais avant le développement de l'aster spermatique et la copulation).

On sait, depuis le travail de HERLANT (1918), que le développement d'un monaster est caractéristique de l'œuf activé. DALCQ (1931) a récemment montré que la dicentrie ne peut apparaître qu'après un remaniement profond du protoplasme ovulaire, opéré, dans les conditions normales, par le développement de l'aster spermatique. Quoiqu'il s'agisse, dans l'expérience qui vient d'être décrite, d'œufs fécondés, l'onde de gélification reste centrée sur le pronucléus ♀. Ceci montre que la seule pénétration du spermatozoïde fécondant ne suffit pas pour opérer le remaniement du protoplasme nécessaire à l'apparition d'une figure bipolaire : le rôle de l'aster spermatique en tant que « antécédant de la bipolarité » (DALCQ (1931), n'a pas encore eu le temps de s'accomplir.

L'évolution ultérieure de ces œufs a été morphologiquement normale. La première mitose ne présenta aucune particularité ; elle se produisit cependant avec un retard de 30 à 40 minutes sur les témoins.

* * *

Les œufs fécondés, placés dans l'eau de mer à 31°-32° pendant la « pause », c'est-à-dire après la copulation des pronucléi et avant la disparition de la membrane nucléaire (20 à 45 minutes après la fécondation, à 18°), n'entrent pas en mitose tant qu'ils restent à cette température. Leur noyau ne montre pas de modifications visibles ; le protoplasme non plus, tant que la durée de séjour dans l'eau chaude n'est pas exagérée (tant qu'il n'y a pas de cytolypse). Seul, l'aster régresse un peu, en devenant irrégulier et rameux.

Ces œufs, transportés dans l'eau froide après une quin-

zaine de minutes de séjour dans l'eau chaude, entrent en mitose normale, mais avec un retard sur les témoins.

Si l'action de la chaleur est un peu plus prolongée, l'évolution de ces mitoses devient très asynchrone. Aussi, trouve-t-on dans de tels lots quelques mitoses polycentriques et enfin quelques troubles nucléaires rappelant des aspects d'amitose.

5. — ACTION DE LA CHALEUR PENDANT LA CARIOCINÈSE

L'expérience est conduite à peu près de la même façon que les précédentes : les œufs fécondés se développent à la température du laboratoire jusqu'au stade diaster. A ce moment, ils sont placés dans l'eau de mer à 32° C. (dans des tubes Borrel bouchés pour éviter l'évaporation). Toutes les 10 minutes on prélève un petit lot d'œufs que l'on fixe.

10 minutes après le commencement de l'expérience, la mitose commence à se désorganiser. Les chromosomes, jusque-là régulièrement placés sur le fuseau, perdent cette orientation normale. On les voit former avec l'axe du fuseau les angles les plus variés. Au moment de la plaque équatoriale, on en voit souvent quelques-uns retenus près des pôles du fuseau ; ce dernier, comme les fibres astériennes, garde pour le moment son aspect normal.

Dans les 10 minutes suivantes, les chromosomes continuent à s'altérer rapidement : ils se gonflent de plus en plus, se rapprochent ainsi et finalement se soudent les uns aux autres de façon à former un ou plusieurs blocs de chromatine compacte (fig. 2 et II).

Ces figures sont tout à fait analogues à celles décrites par J. BURY chez l'œuf d'Oursin traité par le froid, par VLÈS et DRAGOIU (1921) chez l'œuf de la même espèce traités par des solutions hypertoniques ; par VLÈS, DRAGOIU et ROSE (1923), après traitement par des solutions de pH=4,0 et enfin par FAURÉ-FREMIET (1924), chez l'œuf de *Sabellaria alveolata* L. sous l'action des températures élevées.



Fig. II. — Agglomération des chromosomes dans un œuf chauffé pendant la métaphase.

Un peu plus tard (30 minutes environ après le début de l'expérience), on voit de grosses particules chromatiques se séparer du bloc ainsi formé ; une partie de ces grains se disperse dans le protoplasme environnant, une autre reste au centre de l'œuf. Parfois, on observe au bout de quelque temps des fuseaux entièrement dépourvus de matériel chromatique, mais, dans la majorité des cas, une partie de la chromatine reste, sur le fuseau. Celui-ci, et surtout, les asters, deviennent moins réguliers, plus rameux et plus colorables.

Le corps protoplasmique de l'œuf commence, comme d'ordinaire, sa division en deux blastomères environ 70 minutes après la fécondation. L'étranglement de la cellule va plus ou moins loin, suivant les cas, mais le cloisonnement cytoplasmique n'est jamais complet et définitif : le début de séparation des deux blastomères est toujours suivi de leur refusionnement.

Ces débuts de plasmodiérèse ne laissent plus au bout de peu de temps que des traces sous forme d'une encoche ou d'un sillon à la surface de l'œuf.

Vers le même moment, on voit apparaître au centre de l'œuf, au-dessus ou au-dessous ou même souvent à plusieurs endroits dans l'épaisseur même du fuseau de moins en moins régulier, une ou plusieurs vacuoles, apparaissant d'abord comme de simples taches claires, qui se développent de plus en plus et dans lesquelles on voit disparaître peu à peu les amas et grains de chromatine (fig. 3 et III).



Fig. III. — Dissolution de la chromatine dans le suc nucléaire (premier stade de la reconstitution du noyau dans un œuf chauffé pendant la métaphase).

On voit là très nettement deux processus différents, dont je discuterai plus bas la signification : d'une part, l'accumulation au centre de l'œuf d'une substance probablement très liquide ; d'autre part (et secondairement), la dissolution dans cette substance des chromosomes ou des blocs et grains chromatiques, résultant de l'agglomération ou de la désagrégation de ceux-ci.

La vacuole, dans laquelle est disparue la chromatine, s'individualise de plus en plus. Bientôt, elle s'arrondit; une membrane apparaît très nettement à sa surface. Son contenu, légèrement éosinophile, présente une structure finement alvéolaire. On est en présence d'un noyau, le plus souvent dépourvu de chromatine sous forme figurée, et de dimensions fortement supérieures à celles du noyau de l'œuf fécondé (fig. 4).

Dans quelques cas, probablement lorsque les deux séries de chromosomes ont été bien écartées déjà au moment où le chauffage a été commencé, on observe la formation de deux noyaux dans un corps cytoplasmique indivis. A la surface du noyau reconstitué sont accolés les deux asters en voie de régression. La première mitose est terminée, mais l'œuf montrera au bout de peu de temps une nouvelle activité.

On voit, en effet, au bout de 10 à 15 minutes, apparaître dans la majorité des œufs un nouveau cycle de mitoses abortives, qui s'achève au cours des 20 à 30 minutes suivantes. Les mitoses de ce second cycle, dont l'apparition coïncide avec la disparition des grains de chromatine cytoplasmique abondants jusqu'ici dans toute la masse de protoplasme, débutent par un nouveau développement des asters accolés à la membrane nucléaire et par l'apparition au contact de celle-ci d'asters supplémentaires. Les figures 5, 6 et 7 rendent très nettement compte de ce phénomène : il s'agit toujours, au contact de la membrane nucléaire, de la formation d'asters nouveaux, et aucune image ne semble indiquer la subdivision d'un aster régressé.

Le lieu et le moment de la formation de ces asters surnuméraires sont également caractéristiques : DALCQ a, en effet, montré que la formation des asters implique une interaction entre le protoplasme et le suc nucléaire. Il n'est donc point étonnant (et ceci confirme la manière de voir de DALCQ), que les asters surnuméraires apparaissent au contact de la membrane nucléaire qui disparaîtra bientôt (fig. 7), et qui laisse déjà sans doute diffuser le suc nucléaire.

Il faut noter d'autre part qu'il se forme en même temps des cytasters (fig. 7). Ce phénomène a été observé également par FAURÉ-FRÉMIET sur l'œuf de *Sabellaria* soumis à l'action de la chaleur. Enfin, nous savons que beaucoup d'autres facteurs, tels que les solutions hypertoniques, par exemple, peuvent en provoquer la formation. Ce qui doit, dans ce cas particulier, arrêter notre attention, c'est le fait que, dans des conditions analogues, nous n'avons point observé la formation de cytasters chez l'œuf vierge chauffé. Ce fait doit être considéré comme une confirmation nouvelle de l'idée de DALCQ, d'après laquelle la formation des cytasters ne serait possible qu'après l'inondation de l'ooplasmе par le suc nucléaire (après rupture de la vésicule germinative).

Mais il faut noter, d'autre part, que l'apparition des cytasters dans l'œuf chauffé peut avoir lieu pendant la période intercinétique (quoique leur plein développement ne doive avoir lieu que pendant la mitose). Cela semble indiquer que la totalité de suc nucléaire n'est pas récupérée à la télophase par le noyau en reconstitution ou bien qu'il se produit, malgré le caractère abortif de la première mitose, une synthèse active du suc nucléaire. Le volume exagéré du noyau reconstitué semble plaider en faveur de la dernière hypothèse. Il y aurait à ce point de vue une analogie entre l'œuf activé monastérien et l'œuf bloqué dans son évolution par la chaleur. Dans les deux cas, on saisit l'indépendance dont jouissent ces phénomènes de synthèse nucléaire par rapport à l'évolution de la figure mitotique.

Il sera enfin intéressant de noter que le noyau reconstitué présente dès sa reconstitution une taille supérieure à la normale, que cette taille ne résulte donc pas d'un gonflement progressif, postérieur à la formation de la membrane nucléaire. Par conséquent, si cette taille énorme témoigne d'une synthèse de substances nucléaires, il faut admettre que celle-ci a dû se produire durant la cariocinèse.

La formation et le développement des asters surnumé-

raires sont bientôt suivis de la dissolution de la membrane nucléaire et de la constitution de nouvelles mitoses qui cependant ne s'achèvent pas non plus d'une façon régulière. Au point de vue de leur matériel chromatique, elles commencent par être normales ; au point de vue de la figure achromatique, elles sont polycentriques, sauf dans de rares exceptions, et cette polycentrie est due, soit à l'intervention d'asters supplémentaires, soit à la présence de cytasters ; enfin, dans un certain nombre de cas, la polycentrie peut être secondaire, c'est-à-dire due à la subdivision d'un des pôles. La figure 9 représente ce dernier cas. La fixation a saisi l'œuf au moment où l'un des pôles était en voie de division et l'on voit très nettement la formation entre les deux nouveaux pôles d'un fuseau. Cette figure apporte donc une nouvelle preuve de la faculté des asters de se diviser en formant entre eux un fuseau plus ou moins net, même lorsqu'il n'existe pas entre les deux nouveaux pôles de chromatine à l'état figuré.

Les mitoses du second cycle sont rapidement altérées : au cours de cette nouvelle destruction, on retrouve toutes les étapes principales de la destruction des mitoses du premier cycle, décrit plus haut. Mais le phénomène est plus précipité, et l'on voit rarement avec netteté la dislocation

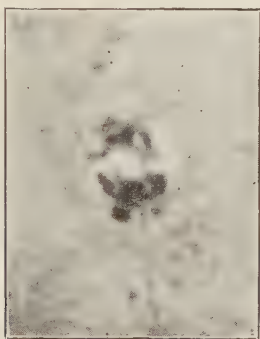


Fig. IV. — Détail de la reconstitution nucléaire : formation de la vacuole (suc nucléaire) et dissolution de la chromatine.

en grains du bloc chromatique résultant de la soudure des chromosomes : très rapidement, on voit apparaître autour de celui-ci une tache claire (fig. IV), qui se développe en englobant toute la masse de chromatine. Le fuseau dégénère rapidement. Les asters sont conservés, quoique rameux et irréguliers. L'évolution abortive de ce cycle s'achève rapidement par la reconstitution d'un ou de plusieurs noyaux géants (fig. V). Les œufs à noyaux reconstitués du second

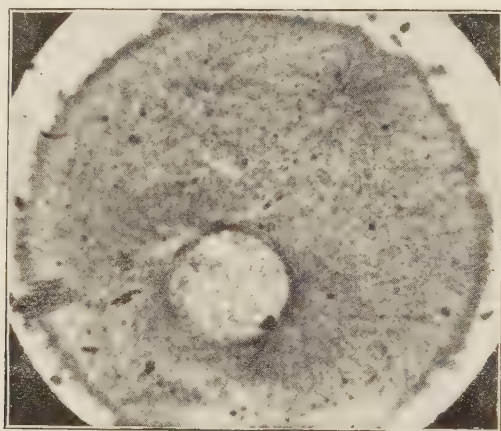


Fig. V. — Œuf chauffé pendant la métaphase ; noyau reconstitué du 2^e cycle. A noter la présence d'un cytaster.

cycle sont reconnaissables à la présence de cytasters, en plus des asters périnucléaires.

En même temps que les mitoses du second cycle achèvent leur évolution, les grains de chromatine cytoplasmique réapparaissent. La signification de ces grains est difficile à préciser, étant donné l'irrégularité de leur évolution. On se rappelle que chez l'œuf vierge chauffé leur disparition coïncidait avec l'installation des mitoses. Chez les œufs vierges refroidis leur disparition est, au contraire, la conséquence immédiate de la fécondation (J. BURY). Enfin, chez l'œuf chauffé pendant la caryocinèse, je viens de mentionner leur disparition au moment où s'installent les

mitoses du deuxième cycle et leur réapparition à la fin de celui-ci. Mais au cours des mitoses du premier cycle, comme souvent au cours des mitoses normales chez l'œuf d'Oursin, on a plutôt l'impression d'une évolution inverse.

A. BRACHET (1922) a également observé des irrégularités semblables dans leur évolution au cours de ses recherches sur la fécondation prématurée des œufs d'Oursin et s'est gardé d'une interprétation.

Pendant les mitoses du deuxième cycle, le cytoplasme ne montre aucune tentative de division ; les traces de la première division continuent, au contraire, à s'effacer.

L'évolution de tous les œufs est relativement très synchrone durant le premier cycle. Pendant le second, elle devient de moins en moins régulière et 2 heures après le commencement de l'expérience on retrouve encore, dans une même préparation, tous les stades de l'évolution décrite. Cela permet, semble-t-il, de supposer l'existence d'un troisième cycle ; il serait toutefois impossible de l'affirmer.

Environ 2 heures après le commencement de l'expérience, l'œuf commence à montrer les premiers signes de la cytolyse : la couche superficielle de l'œuf prend un aspect irrégulier, le pigment se rassemble à la périphérie. Nous ne le suivrons pas au delà de ce stade.

* * *

Avant de continuer la description des observations cytologiques, essayons de voir la signification des anomalies observées ; revoyons-les dans l'ordre de leur apparition.

1^o En premier lieu, nous avons vu se produire l'agglutination des chromosomes ; ce phénomène, comme je l'ai dit plus haut, a déjà été observé par toute une série d'auteurs sous l'action de facteurs divers : changement de la pression osmotique du milieu, changement du pH périphérique, élévation de la température, etc. VLÈS, DRAGOIU et ROSE (1923) expliquent cette agglutination des chromosomes, quand il s'agit du blocage de la mitose par des solutions acides, par une neutralisation partielle de la charge des

chromosomes par les ions H. Cette explication pourrait s'appliquer également à notre cas, sans qu'on puisse toutefois préciser l'origine de la charge neutralisante. Retenons simplement que l'agglutination des chromosomes est due probablement à une modification du protoplasme environnant.

2° Dans notre expérience, l'agglutination des chromosomes et la formation d'un bloc compact de chromatine (« *paquet noir* » de VLÈS et DRAGOIU (1921), est suivie de la fragmentation de ce bloc et de la dispersion des grains de chromatine. La fragmentation et la dispersion des chromosomes, avec ou sans agglutination préalable, est également un phénomène qui a été fréquemment observé, surtout sous l'action des radiations. En particulier, PERTHÈS (1904) l'a observé chez l'œuf d'*Ascaris megalocephala*, sous l'action des rayons X et γ . RÉGAUD et BLANC (1906) l'ont observé dans des cellules séminales sous l'action des rayons X; P. HERTWIG (1911) chez l'œuf d'*Ascaris* soumis à l'action du radium; FAURÉ-FRÉMIET chez le même œuf encore sous l'action des rayons X; LACASSAGNE et MONOD (1922) dans la cellule cancéreuse irradiée par les rayons X et γ ; STRANGEWAYS et OAKLEY (1923) dans les cultures de tissus irradiées (rayons X); ALBERTI et POLITZER (1924) dans les cellules irradiées de la cornée du Triton, etc.

3° Pendant ou après la fragmentation et la dispersion de la chromatine, nous avons observé l'apparition de vacuoles liquides, dans lesquelles se produisait la dissolution de la chromatine. Comme je l'ai déjà souligné plus haut, l'apparition de ces vacuoles et l'accumulation d'un liquide se fait *indépendamment de la chromatine*, dont la dissolution dans ce liquide se présente comme un processus secondaire. L'origine du suc nucléaire est donc très nettement ooplasmique.

Mais si la formation ou l'accumulation du suc nucléaire est un phénomène distinct et autonome, elle semble néanmoins *orientée* par l'emplacement de la chromatine : cette conclusion peut être tirée de l'observation mentionnée plus

haut, d'après laquelle la reconstitution de deux noyaux, au lieu d'un seul, se réalise quand on fait agir la chaleur sur une figure mitotique dont les deux groupes de chromosomes sont déjà écartés aux deux pôles de fuseau. Que cette orientation soit produite vraiment par la chromatine et non point par un des éléments de la figure achromatique, sera montré dans le paragraphe suivant.

Rapprochons toutefois dès maintenant cette conclusion de celle que DALCQ (1931) a tiré de son étude de la fécondation des œufs de Grenouille par des spermatozoïdes trypaflavinés. DALCQ écrit notamment (p. 166) : « La chromatine, même lorsqu'elle ne se régénère plus et se survit simplement, réalise encore un centre d'attraction puissant pour la caryolymphe ».

4^o D'après VLÈS et DRAGOIU (1921), comme d'après VLÈS et ROSE (1923), la formation du « *paquet noir* » semble être le stade final de l'évolution abortive des œufs. Dans mes expériences, je viens de le montrer, l'agglutination des chromosomes est suivie de fragmentation du bloc chromatique et de reconstitution d'un nouveau noyau. Il se peut que les modifications produites par l'élévation de la température soient moins profondes que celles qu'ont produites les auteurs cités. Mais, il se peut également que les observations de ces auteurs n'aient simplement pas été poussées assez loin. Tel est probablement aussi le cas des observations de FAURÉ-FREMIET (1924), qui ne semble pas avoir suivi les œufs de *Sabellaria* au delà du stade de « *paquet noir* ». Pourtant, la température que cet auteur a fait agir sur l'œuf de *Sabellaria* n'était que de 28° C, et il me semble aussi invraisemblable d'admettre que l'évolution de la mitose s'arrête dans ces conditions au « *paquet noir* » que de supposer que l'œuf d'Oursin fait exception à ce point de vue.

L'évolution de l'œuf d'Oursin ne s'arrête pas, même après reconstitution d'un noyau géant : ce noyau recommence une nouvelle mitose dont l'évolution sera tout à fait analogue à celle de la première ; l'œuf fait ainsi preuve

de variations périodiques de son état, provoquées par la chaleur.

Une activité mitotique cyclique, semblable à celle que je viens de décrire, a été observée par J. BURY (1913). La mitose des œufs placés pendant le diaster de la première division de segmentation dans l'eau à 0° C se termine, d'après cet auteur, par la reconstitution d'un noyau à partir de chromosomes gonflés en caryomérites; ce noyau reconstitué, conservé à la température de 0°, commence une série de cycles mitotiques abortifs dont l'évolution est analogue. Sous l'action d'un fort abaissement de la température, il se produit donc des variations périodiques de l'activité nucléaire, analogues à celles que nous venons d'observer.

5° Les mitoses du deuxième cycle sont, comme je l'ai déjà fait remarquer plus haut, tout à fait normales au début, au point de vue de leur matériel chromatique; ces mitoses proviennent de noyaux reconstitués après altération de la chromatine. On doit en conclure que les modifications de l'état de la chromatine, produites par l'action de la température, sont assez rapidement réversibles, au moins quand cette chromatine se trouve dissoute dans le suc nucléaire. D'autre part, la stabilité de la chromatine sous forme figurée de chromosomes, semble beaucoup moindre que celle d'un noyau au repos.

6° La polycentrie caractérise les mitoses du deuxième cycle. Cette polycentrie est due pour une part à l'apparition de cytasters sous l'action de la chaleur. Ce phénomène, déjà observé dans les conditions expérimentales les plus diverses et, en particulier, sous l'action de la chaleur par FAURÉ-FRÉMIET (1924), témoigne certainement d'un accroissement de l'hétérogénéité du protoplasme.

La polycentrie observée est due, deuxièmement, à la subdivision des pôles de la mitose, lors de la reconstruction des noyaux du premier cycle.

J'ai observé des mitoses polycentriques comportant jusqu'à 7 et 8 fuseaux. Tel est par exemple le cas de la

figure VI, où par une chance extraordinaire, les 7 fuseaux se sont trouvés dans le plan de la coupe. Dans des cas



Fig. VI. — Mitoses polycentriques du 2^e cycle dans un œuf chauffé pendant la métaphase.

exceptionnels seulement, une partie de ces fuseaux (fig. VI) peuvent être dépourvus de chromosomes. Dans la grande majorité des cas, ces fuseaux portent tous des chromosomes, de taille et forme normales, mais dont le nombre total semble très fortement augmenté.

7^o Tandis que le noyau de l'œuf continue pendant très longtemps des tentatives successives de division, le protoplasme de l'œuf n'en montre qu'une ; il semble ensuite complètement paralysé ; comme plus haut en étudiant l'action de la chaleur sur l'œuf vierge, nous pouvons en tirer la conclusion que le protoplasme de l'œuf est beaucoup plus sensible à l'action de la chaleur que le noyau.

Il ne semble pas en être de même à l'égard de tous les facteurs. DRIESCH (1893), puis J. LOEB (1895-1896), concluaient comme nous, en ce qui concerne l'action des solutions hypotoniques, mais KONOPACKI (1918) n'a pas la même impression. La sensibilité du protoplasme semble aussi plus grande que celle du noyau à l'égard de l'abaissement du pH du milieu (VLÈS, DRAGOIU et ROSE, 1923).

Mais en ce qui concerne l'action des radiations, la sensibilité du noyau est très nettement supérieure à celle du protoplasme (G. HERTWIG (1911) : radium ; P. REISS (1925) : radium et rayons X).

6. — CAS SPÉCIAL : FORMATION DE CARYOMÉRITES

Dans les pages précédentes j'ai décrit le mode le plus général de dégénérescence de la mitose, chez l'œuf soumis à l'action d'une température minima mortelle. Cependant, à côté de ce mode de destruction, par soudure des chromosomes et dispersion de grains chromatiques, il en existe un autre qu'on ne rencontre que très rarement chez l'œuf d'Oursin chauffé à 30°-32° C. Ce mode de dégénérescence commence également par un gonflement des chromosomes. Mais ici, les chromosomes, au lieu de se souder entre eux dès le début, et au lieu de persister pendant assez longtemps sous forme figurée d'un « *paquet noir* », se liquéfient rapidement, sans que l'on puisse distinguer séparément, l'accumulation du suc nucléaire et leur dissolution dans celui-ci. Les chromosomes forment ainsi très rapidement une série de vacuoles, qui ne se distinguent des caryomérites, tels qu'on les observe normalement à la télophase, que par leur volume relativement très grand. La soudure se fait ici, non pas entre chromosomes isolés, mais postérieurement à leur liquéfaction, entre caryomérites. On aboutit donc, comme dans le cas plus général, à un noyau reconstitué ; mais ici la soudure se fait assez souvent non pas entre tous les caryomérites à la fois, mais par groupes, et l'on observe par conséquent, assez souvent, la formation de plusieurs noyaux d'aspect normal, au lieu d'un seul noyau géant.

Ce deuxième mode de destruction de la mitose offre une forte analogie avec celui que J. BURY (1913) a décrit chez l'œuf d'Oursin sous l'action du froid et DALCQ (1923), chez l'œuf d'*Asterias glacialis* en maturation sous l'action de solutions hypotoniques.

Comme je l'ai déjà fait remarquer plus haut, la formation

de caryomérites est rare dans mes préparations provenant de cette expérience, et c'est pourquoi je n'ai pu étudier avec précision leur évolution ultérieure. Mais il sera intéressant de rappeler que J. BURY a observé dans ses expériences, où la formation de caryomérites était le mécanisme principal de destruction de la mitose, une évolution cyclique des caryomérites, exactement comparable à celle que j'ai décrite plus haut.

La formation des caryomérites, telle que je viens de la décrire, confirme la conclusion que j'ai formulée dans le paragraphe précédent, relative à l'orientation de l'accumulation du suc nucléaire : ici l'autonomie de ce phénomène est moins nette, mais c'est justement ce qui rend particulièrement évidente l'accumulation autour des chromosomes du suc nucléaire dont l'origine ne peut être ici encore, comme dans le cas décrit plus haut, que protoplasmique.

Le processus de formation de caryomérites permet, en outre, de dissocier avec une très grande netteté l'évolution morphologique de la figure mitotique et l'évolution du protoplasme ovulaire : tandis que dans les conditions normales, l'accumulation du suc nucléaire, suivie de la dissolution des chromosomes, coïncide exactement avec la fin de la mitose ; une dissociation de ces deux processus apparaît ici : la liquéfaction des chromosomes se produit longtemps avant la télophase ; j'ai eu l'occasion de l'observer pendant la métaphase aussi bien que pendant l'anaphase.

Dans une note préliminaire, publiée en 1924, j'ai fait l'hypothèse que cette dissociation pouvait être la conséquence d'une accélération inégale des deux phénomènes. Une interprétation analogue de la formation des caryomérites, en tant que dissociation des deux processus, synchrones dans les conditions normales, a été formulée également par DALCQ (1924). Nous trouverons une confirmation de cette hypothèse dans le troisième chapitre relatif aux coefficients de température. Notons pour l'instant que les faits qui viennent d'être décrits témoignent l'indépendance de l'évolution de la figure achromatique et du matériel chromatique.

7. RÉVERSIBILITÉ DE L'ARRÊT DU DÉVELOPPEMENT
PRODUIT PAR L'ACTION
D'UNE TEMPÉRATURE MINIMA-MORTELLE

Je décrirai maintenant l'évolution ultérieure d'un lot d'œufs, provenant de l'expérience décrite p. 30, mais qui après 40 minutes de séjour à l'étuve a été transporté dans l'eau à la température ordinaire (18° C).

Je rappelle qu'à ce moment on peut distinguer dans ce lot, les trois catégories d'œufs suivantes :

1) Œufs, commençant des mitoses polycentriques du deuxième cycle.

2) Œufs, dont la figure mitotique du deuxième cycle est déjà altérée.

3) Œufs à noyaux reconstitués du premier cycle.

L'évolution des œufs de chacune de ces catégories est bien différente ; c'est pourquoi je les décrirai séparément. (Voir le schéma de la fig. VII.)

Transportés dans l'eau froide, les œufs dont les chromosomes se sont déjà soudés, commencent par reconstituer leurs noyaux, en passant par tous les stades de désintégration de la figure mitotique décrits plus haut. Leur division, qui ne commence que 60 à 70 minutes après le transport dans l'eau froide, a donc pour point de départ la division de ces noyaux reconstitués. Par ailleurs, leur évolution diffère peu de l'évolution des œufs normaux. Elle est quelquefois bipolaire, mais le plus souvent multipolaire. La division cytoplasmique se fait en même temps et simultanément en autant de parties qu'il y avait de centres.

Tout autre est l'évolution des œufs dont la figure mitotique du deuxième cycle n'a pas été influencée par la chaleur. Leur division nucléaire s'achève le plus souvent normale, à partir des fuseaux présents au moment de leur transport dans l'eau froide, sans qu'il y ait reconstitution préalable de noyaux. C'est là une nouvelle preuve du fait que, dans chaque cycle, la figure mitotique commence par

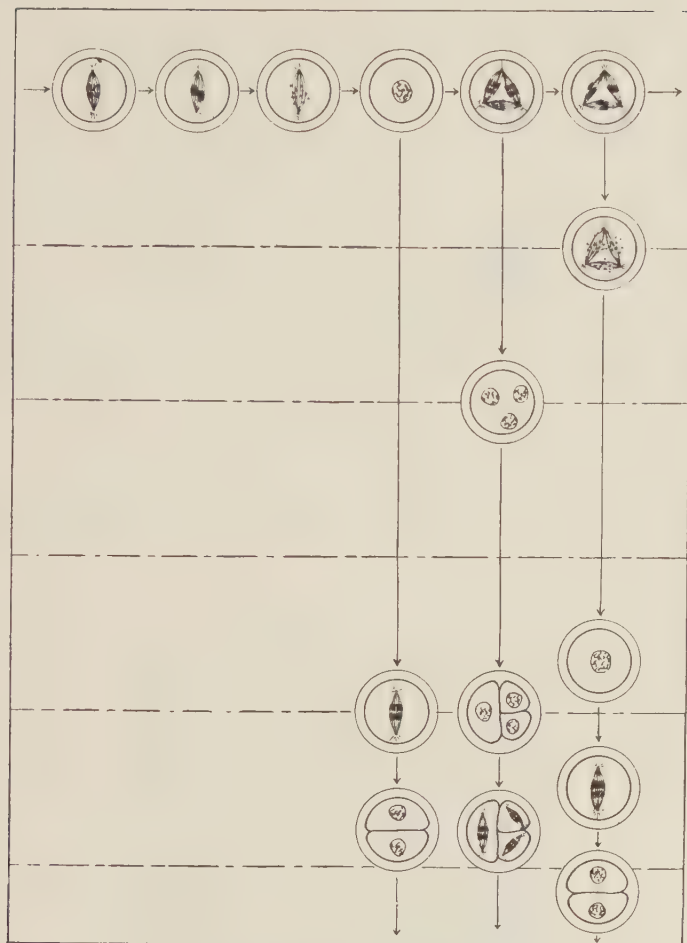


Fig. VII. — Schéma de la réversibilité de l'arrêt du développement de l'œuf provoqué par le chauffage. En haut : évolution de l'œuf conservé dans l'eau chaude. En bas : évolution des œufs transportés dans l'eau froide après différents temps de chauffage.

être normale ; l'action de la température la modifie secondairement.

Dans ces œufs, la division nucléaire, qui a lieu après 25 à 30 minutes de séjour dans l'eau à 18° C., est encore, dans la très grande majorité des cas, multipolaire. Mais

elle n'est immédiatement suivie de plasmodiérèse que dans des cas tout à fait exceptionnels. Dans la presque totalité des cas, au contraire, malgré le transport dans l'eau froide, l'activité du cytoplasme reste paralysée pendant assez longtemps encore, d'où résultent les images caractéristiques d'œufs contenant dans un cytoplasme indivis 2, 3, 4 noyaux, dont les dimensions peuvent souvent être encore bien supérieures aux dimensions normales (fig. VIII).

Le protoplasme paralysé par la chaleur a donc besoin d'un certain temps pour reprendre son activité normale. On comprend ainsi pourquoi sa division suit immédiatement la division nucléaire tardive des œufs transportés dans l'eau froide à un stade d'altération de leur première mitose ; chez ceux-ci, en effet, la nouvelle mitose, qui aboutira à la division nucléaire et entraînera la cytodiérèse, ne commence que beaucoup plus tard, après reconstitution nucléaire.



Fig. VIII. — Formation de trois noyaux dans un œuf chauffé par suite de l'inhibition de la plasmodiérèse.



Fig. IX. — Troubles de la polarité dans les premiers deux blastomères d'un œuf chauffé.

Chez ces œufs, dont la division a eu pour point de départ des figures mitotiques normales, présentes, au moment du transfert dans l'eau froide, il apparaît environ 60 à 70 minutes après ce transport (c'est-à-dire presque immédiatement après la première plasmodiérèse qui a découpé l'œuf en plusieurs blastomères en même temps), de nouvelles mitoses qui continuent la segmentation. Le second temps de la segmentation aboutit, de ce fait, à la formation de 4,6 ou 8 blastomères, selon le résultat fourni par le premier temps, car les secondes divisions des blastomères sont toujours normales, c'est-à-dire bipolaires et immédiatement suivies de cloisonnement cytoplasmique. Les troubles du cytoplasme ne laissent, à ce moment, que de faibles traces, sous forme de légères anomalies dans la polarité des mitoses (fig. IX).

Enfin, dans les œufs, qui ont été transportés dans l'eau froide au moment où leur noyau a déjà été reconstitué (à la fin du premier cycle), la division part également de ce noyau reconstitué. Mais cette division, qui commence généralement assez tard (après environ 60 minutes de séjour

dans l'eau froide) est, sauf dans de rares exceptions, immédiatement suivie de plasmodiérèse, ce qui s'accorde très bien avec les observations relatées plus haut.

Dans de très rares cas seulement, j'ai observé des troubles dans les mitoses d'un œuf après transport dans l'eau froide et après la plasmodiérèse. La figure 10 représente un tel cas : l'œuf divisé en 2 blastomères présente dans un de ceux-ci un noyau reconstitué se préparant à la division et dans l'autre 2 mitoses ayant un pôle commun et présentant un désordre dans la disposition des chromosomes. Ceci est un cas intéressant d'hétérochronie dans l'évolution des deux blastomères. Son interprétation est cependant actuellement très difficile.

Un œuf ayant subi sous l'action d'une température minima-mortelle toute une gamme d'altération est donc encore capable de développement. Il l'est même encore pendant et après l'agglomération des chromosomes en « *paquet noir* », qui, contrairement à ce que pensent VLÈS et DRAGOIU (1921), peut ne pas être le terme final d'une évolution abortive irréversible.

8. — ACTION D'UNE TEMPÉRATURE PLUS ÉLEVÉE SUR LA MITOSE

Les œufs plongés dans une eau de mer à 34° C pendant le stade diaster, présentent à peu près les mêmes anomalies que celles que j'ai décrites plus haut et dont l'apparition était causée par l'action d'une température de 32° C. Seulement l'évolution est ici plus rapide et les anomalies plus accentuées. Les modifications de la mitose se limitent ici à un seul cycle mitotique, terminé par la reconstitution des noyaux.

La plaque équatoriale de ces œufs se désorganise très rapidement ; au bout d'une dizaine de minutes, on trouve les chromosomes orientés n'importe comment sur les fuseaux. Beaucoup d'entre eux sont repoussés sur les fibres astériennes et même dans le protoplasme ambiant.

Ils restent soit isolés, et alors on les voit fréquemment se transformer en caryomérites ; plus souvent, ils s'agglomèrent, comme c'était la règle chez les œufs chauffés à 32° C, et les blocs chromatiques se liquéfient pour former un ou plusieurs noyaux ; cette « liquéfaction » est très rapide dans les deux cas et l'on n'assiste que très rarement à la fragmentation et la dispersion des particules chromatiques.

La figure achromatique est très rapidement altérée : le fuseau est détruit presque immédiatement ; les asters commencent par devenir irréguliers, rameux et flexueux ; puis se rapprochent de plus en plus pour se fusionner au centre de l'œuf à l'endroit où le noyau va se reconstituer, et former un seul « *nœud astérien* ». L'individualité des asters n'est jamais conservée et, au bout de peu de temps, on ne trouve plus dans les élevages de figures bipolaires.

La cytolyse d'une grande partie des œufs commence et progresse rapidement.

APPENDICE — ACTION DU CHLORAL ET DU KCN

L'évolution des œufs chauffés dans les mêmes conditions que les précédents, mais dans une eau de mer contenant un peu de chloral hydraté (2 %) ou de Cyanure de potassium (0,1 %) présente quelques particularités. L'action de ces substances porte principalement sur les points suivants :

- 1) La cytolyse des œufs est considérablement retardée ;
- 2) La mitose est détruite, mais l'on n'observe jamais la formation de caryomérites. Les chromosomes sont moins souvent dispersés et forment d'ordinaire un seul « *paquet noir* » ;
- 3) La reconstitution nucléaire semble retardée ;
- 4) La figure achromatique ne régresse pas de la même façon : son altération débute par l'apparition d'un grand nombre d'asters spiralés. Le centre des asters, l'emplacement du fuseau, sont transformés en de larges zones granuleuses. Par la suite, les asters deviennent de moins en moins réguliers, les fibres astériennes de plus en plus rameuses et anastomosées. Mais la figure achromatique ne régresse pas complètement et reste toujours bi-polaire.

En somme l'action de ces substances semble porter avant tout sur le protoplasme, qui montre des signes d'inertie. Le ralentissement des phénomènes nucléaires apparaît plutôt comme une conséquence secondaire.

9. — ACTION DE LA CHALEUR SUR LE CHONDRIOME

Je n'ai que très peu d'observations en ce qui concerne l'action de la température sur le chondriome. L'œuf d'Oursin se prête, en effet, assez mal à cette étude.

D'une part, le volume de l'œuf, relativement gros, rend très difficile l'observation du matériel vivant ; d'autre part, le nombre d'inclusions mises en évidence par les fixateurs mitochondriaux est assez grand et la distinction des mitochondries est souvent très difficile.

Ces inclusions sont les suivantes : la fixation à un fixateur osmique (liquide de Benoît, par exemple) met en évidence de petits amas de gouttelettes de graisse (probablement neutre), entourés d'une petite plage qui se colore (après la même fixation), très intensément par la fuchsine. Après fixation au liquide de Helly et postchromisation, cette plage prend l'hématoxyline de Koulitchitzky : elle est donc probablement constituée par des lipoïdes. Aucun de ces deux éléments n'est mis en évidence par les fixations ordinaires, au liquide de Bouin, par exemple.

Tout l'espace protoplasmique entre ces éléments est parsemé de fines granulations mitochondriales (les éléments du chondriome ne se trouvent sous forme de très fins filaments que dans des cas très rares). Mais de plus, un grand nombre de mitochondries sont accolées intimement à la zonule lipoïde, et, parmi les œufs d'une même femelle, on en trouve un certain nombre où *toutes* les mitochondries sont collées sur cette zonule, sans qu'on en trouve de libres dans le cytoplasme environnant. Ce fait gêne tout particulièrement l'étude de l'action de la température.

Un chauffage d'une demi-heure à 55° ne produit aucune modification visible des deux premiers éléments décrits. Au contraire, la grande partie (au moins) des mitochondries

disparaît complètement, et notamment toutes celles qu'on voit chez les témoins remplir l'espace entre les éléments lipoides. Mais il est extrêmement difficile de dire si les mitochondries collées sur ces derniers disparaissent également.

Ces observations semblent toutefois être en accord avec celles de POLICARD (1912) et POLICARD et MANGENOT (1922), d'après lesquelles les mitochondries des cellules végétales, des cellules rénales et hépatiques de la Grenouille disparaissent à 48°-50°.

10. --- ACTION DE LA CHALEUR SUR LE VACUOME

J'ai étudié, en collaboration avec Maurice PARAT (1929), l'action de la chaleur sur le vacuome de l'œuf d'Oursin. Nous avons opéré à la température de 30° C, sur des œufs vierges et sur des œufs fécondés (au stade diaster), les deux lots ayant été préalablement colorés au rouge neutre. Des prises étaient effectuées toutes les 10 minutes et observées au microscope, pendant que des témoins, non colorés, étaient fixés pour un examen cytologique ultérieur; nous avons enfin isolé un seul œuf de chacun des lots et avons suivi son comportement au cours du chauffage: cette dernière expérience nous a paru nécessaire étant donné les assez fortes fluctuations du nombre et de la taille des vacuoles selon les œufs et selon les femelles. Aussi, la taille des différentes vacuoles d'un même œuf est assez variable. L'isolement d'un seul œuf dans une goutte pendante facilite beaucoup l'observation en permettant souvent de faire plusieurs mesures successives sur une même vacuole.

1) Œuf vierge. — On sait que l'œuf vierge ne renferme que fort peu de vacuoles (Marguerite PARAT, 1927). Or, au bout de 15 minutes, on constate, à 30° C. une augmentation notable du nombre et de la taille des vacuoles, augmentation qui atteint son maximum au bout de 30 minutes de chauffage. A ce moment, les numérations faites à l'aide d'un micromètre oculaire à réseau montrent que la variation du nombre est dans le rapport de 1 à 3, et les mesures

prouvent que la variation de taille est dans le rapport de 1 à 1,5.

2) Œuf au diaster. — 10 à 20 minutes de chauffage à 30° C. produisent, comme chez l'œuf vierge, une augmentation du nombre et de la taille des vacuoles ; cette augmentation atteint son maximum 50 minutes environ après le début de l'expérience. La figure X montre, par comparaison avec un stade diaster normal (figure empruntée à Marguerite PARAT), l'aspect que présente l'œuf à ce moment : on y voit très nettement la multiplication du nombre et l'augmentation de la taille des vacuoles, dont quelques-

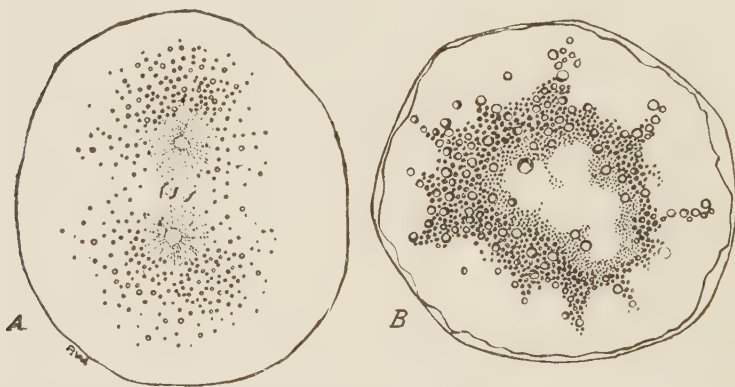


Fig. X. — A) Vacuome dans un œuf d'Oursin normal au stade diaster, d'après Marguerite Parat ; B) Vacuome d'un œuf chauffé au stade diaster, à 30°, pendant 50 minutes.

unes peuvent atteindre un diamètre d'environ 2 μ . On remarquera aussi la polycentrie caractéristique de ce stade et la disposition radiaire grossière qu'imposent au vacuome les irradiations astériennes.

L'examen cytologique du matériel fixé nous a montré que l'appareil de Golgi subit, dans les deux cas, des modifications superposables à celles du vacuome.

Avec M. PARAT, nous avons interprété le gonflement des vacuoles comme étant dû à une absorption d'eau (vacuome = phase protéique aqueuse, d'après M. PARAT).

Le fait de l'augmentation du nombre de vacuoles sous l'action de l'élévation de la température apporte un appui à l'opinion de M. PARAT (1928), d'après laquelle ces « éléments n'ont en eux-mêmes aucune permanence, aucune individualité fixe et transmissible de génération en génération ».

* * *

Après avoir passé en revue l'action de la chaleur sur les différents constituants de la cellule, je puis maintenant aborder avec plus de précision, l'étude de la sensibilité de l'œuf à ce même facteur aux différentes phases de la mitose.

11. — SENSIBILITÉ DE L'ŒUF

A LA CHALEUR AUX DIFFÉRENTES PHASES DE LA MITOSE

La sensibilité de l'œuf fécondé aux différents facteurs externes varie très fortement au cours du cycle mitotique ; toute une série d'observations à ce sujet ont été recueillies par LYON (1904), SPAULDING (1904), LILLIE (1916), KONO-PACKI (1918), HERLANT (1920), FAURÉ-FRÉMIET (1924), etc.

En ce qui concerne la sensibilité à l'action de la chaleur nous ne possédons, à ma connaissance, qu'une étude de WASSERMANN (1921) sur les cellules du méristème des racines d'*Allium cepa*. Le procédé, dont s'est servi cet auteur, consistait dans la numération des mitoses (ou, plus exactement, des trois phases de la mitose : pro-, méso- et télophase), sur des coupes de racines fixées à différents temps après un traitement par une température élevée (36° à 37° pendant une heure). Connaissant la fréquence relative de chacun de ces stades dans la racine normale, WASSERMANN a pu juger de leur sensibilité relative en constatant, après l'action de la chaleur, l'augmentation ou la diminution du nombre de chacun d'entre eux.

Dans ces conditions, WASSERMANN trouve que l'action de la chaleur empêche, d'une part, l'entrée de la cellule en mitose (blocage de la prophase : « *Prophasenhemmung* »)

et, d'autre part, arrête la mitose commencée à la télophase. Une cellule n'entre donc pas en mitose à la température de 36° à 37° ; une mitose commencée avant l'expérience se poursuit, mais s'arrête à la télophase. Les deux stades sensibles sont donc la prophase et la télophase (ou la fin de l'anaphase).

D'après WASSERMANN, la cause du blocage de la cellule est dans les deux cas la même : l'hydratation exagérée du protoplasme.

La méthode dont je me suis servi pour la détermination des phases mitotiques sensibles à la chaleur est différente : je procédais de la manière suivante :

Les œufs d'une femelle bien mûre étaient récoltés dans un grand récipient, lavés à plusieurs reprises, et enfin fécondés. Je plongeais ensuite, à des intervalles réguliers (habituellement de 5 minutes), un petit lot (volume fixe) de ces œufs, contenus dans un tube à essai à parois minces, dans un bain-marie à température constante et pendant un temps égal pour tous les lots (d'ordinaire de 3 à 4 mi-



Fig. XI. — Segmentation irrégulière d'un œuf chauffé.

notes). Au bout de ce temps, le contenu du tube était rapidement versé dans un grand volume d'eau de mer à la température du laboratoire. Dans ces conditions d'expérience, on est toujours sûr que l'échauffement dans le bain-marie a été le même pour tous les lots et qu'à la sortie de celui-ci les œufs ont été instantanément refroidis.

Mes premières expériences m'ont montré que deux choses sont à noter après l'expérience ; ce sont :

1) Le moment de la première division des œufs (ou, ce qui revient au même, le retard sur les témoins) ;

2) Les altérations produites par l'action de la chaleur, celles-ci pouvant être appréciées, le plus exactement, par des numérations des œufs anormalement segmentés ou, plus tard, par le pourcentage des gastrulas nageantes dans les différents lots.

Dans le tableau ci-dessous et la figure XII sont donnés les résultats d'une de mes expériences les plus démonstra-

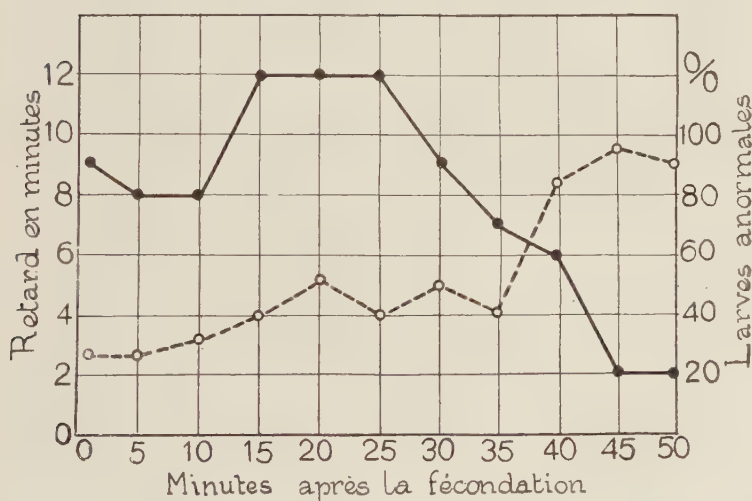


Fig. XII. — Pourcentage de larves anormales (courbe pointillée) et retard à la première division de segmentation des œufs chauffés à 33° pendant 3 minutes, à différents moments après la fécondation.

Lot	Moment du chauffage (en minutes après la fécondation)	Moment de la 1 ^{re} division	Retard sur les témoins (en minutes)	Aspect des œufs pendant la division	% des larves anormales
Témoin	—	15 h. 53 m.	—	Normal	0
A	1	16 h. 2 m.	9	Contour des œufs très légèrement irrégulier	27
B	5	16 h. 1 m.	8		27
C	10	16 h. 1 m.	8		32
D	15	16 h. 5 m.	12	Quelques extraovats au niveau de l'étranglement	40
E	20	16 h. 5 m.	12		51
F	25	16 h. 5 m.	12		49
G	30	16 h. 2 m.	9	La majorité des œufs présente de gros extraovats et des plissements au niveau de l'étranglement.	50
H	35	16 h. 0 m.	7		48
I	40	15 h. 59 m.	6		84
K	45	15 h. 55 m.	2		95
L	50	15 h. 55 m.	2		90

tives. Dans cette expérience, les œufs étaient placés dans le bain-marie toutes les 5 minutes ; ils y restaient 3 minutes. La température du bain était de 35° 8 C, pendant toute la durée de l'expérience.

L'examen des chiffres de ce tableau et des courbes correspondantes permet de voir qu'il existe, pendant le cycle mitotique (de la fécondation au stade II), chez l'œuf d'Oursin deux phases sensibles : la première a lieu 15 à 25 minutes après la fécondation, c'est-à-dire pendant la première partie de la « *pause* » (période comprise entre la copulation des pronucléi et la disparition de la membrane nucléaire) ; elle se traduit surtout par un retard ⁽¹⁾, à la première division et témoigne d'une modification importante et lentement réversible, empêchant l'entrée de la cellule en division.

Les larves anormales ne constituent ici que 40 à 50 % du nombre total, tandis qu'elles atteignent 95 % et caractérisent ainsi la seconde phase sensible qui s'installe dans l'œuf 40 minutes environ après la fécondation, c'est-à-dire à la fin de la mitose et immédiatement avant la plasmodiérèse (fin de l'anaphase ; télophase).

Comme dans le cas étudié par WASSERMANN, il existe donc chez l'œuf d'Oursin deux phases sensibles à la chaleur : les stades d'évolution de la mitose auxquels elles correspondent semblent coïncider grossièrement. Mais chez l'œuf d'Oursin, les altérations trouvent leur expression dans des phénomènes différents dans les deux cas : pendant la première phase sensible l'œuf réagit par un retard à la première division ; pendant la seconde, les anomalies de constitution des larves témoignent de l'altération de l'œuf. Le mécanisme d'altération ne semble donc pas être le même dans les deux cas.

(1) Le retard n'a été dans cette expérience que de 12 minutes au maximum. Ce fait est dû à la courte durée du chauffage des œufs, qui n'a été que de 3 minutes. Un chauffage plus fort, qui provoquerait un retard plus fort, provoquerait en même temps des anomalies plus nombreuses dans toute la série des lots et il serait ainsi impossible de dissocier les deux phénomènes dans une même expérience.

Le contrôle cytologique de cette expérience a montré que les œufs chauffés pendant la première phase sensible ne subissent pas de modifications immédiates. Au moment de la division, la majorité de ces œufs montre une figure mitotique normale, mais l'évolution des mitoses est fortement asynchrone. On trouve dans ce lot un faible pourcentage de mitoses multipolaires et, enfin, quelques œufs montrant des troubles nucléaires (figures d'amitose?). Toutes ces observations tendent à prouver que, pendant la première période sensible, l'action de la chaleur touche surtout un mécanisme nucléaire ou, plus exactement, la propriété du protoplasme qui conditionne l'évolution nucléaire (comparer p. 29). Il n'est peut-être pas sans intérêt de rappeler, d'autre part, que d'après BATAILLON (1910) et FAURÉ-FREMIET (1913) c'est justement pendant cette phase que la présence d'oxygène est nécessaire pour la réalisation de la mitose.

La division nucléaire des œufs chauffés pendant la seconde phase sensible est parfaitement normale. Pour l'interprétation, il faut s'adresser plutôt à l'aspect des œufs pendant la division. A ce moment, tous les œufs présentent, au niveau de l'étranglement de petites boules protoplasmiques (extraovats), trouble caractéristique dû à l'abaissement de la viscosité protoplasmique (CHAMBERS, 1924).

La viscosité protoplasmique est, sans doute modifiée également pendant la première phase sensible ; il en reste d'ailleurs des vestiges négligeables (forme légèrement irrégulière des œufs) pendant la première division. Mais ces troubles de la viscosité protoplasmique sont probablement très rapidement réversibles et ne provoquent pas ainsi d'anomalies sérieuses chez les œufs chauffés plus d'une demi-heure avant la plasmodiérèse. Chez les œufs chauffés pendant l'anaphase, au contraire, ces modifications n'ont pas le temps de s'effacer au moment de la division (qui intervient immédiatement après le chauffage, sans retard appréciable) et provoquent ainsi l'apparition d'anomalies

chez la presque totalité des larves, par suite, très probablement, de déplacement des matériaux ovulaires (1).

RÉSUMÉ

En remettant à la fin de mon travail la discussion des mécanismes possibles des altérations décrites, je me limiterai ici à rappeler les résultats principaux auxquels j'ai été amené par l'étude cytologique des œufs soumis à l'action de la chaleur.

1) Comme pour les températures basses, il existe dans les températures hautes une zone où les modifications produites par l'action de la chaleur sont réversibles.

2) Les lésions produites par l'action de la chaleur sont, avant tout, des lésions cytoplasmiques ; le cytoplasme de l'œuf se révèle comme beaucoup plus sensible aux températures élevées que le noyau.

3) Parmi les propriétés protoplasmiques, ce sont celles qui conditionnent l'évolution nucléaire qui sont les premières touchées.

4) La chromatine d'un noyau au repos est beaucoup moins sensible à l'action de la chaleur que la chromatine sous forme figurée de chromosomes. D'autre part, la prophase semble être la période de la plus grande sensibilité de l'ensemble du système. L'action de la chaleur empêche donc pendant la prophase un processus protoplasmique préparant la division nucléaire.

5) La réversibilité d'une partie des altérations produites est immédiate ; une autre partie des altérations n'est que lentement réversible.

6) Les troubles de la viscosité protoplasmique, qui déterminent des malformations des larves provenant d'œufs chauffés pendant l'anaphase, semblent assez rapi-

(1) Il est intéressant de souligner l'analogie des résultats de l'expérience décrite avec les résultats obtenus par POLITZER (1925) et par ANCEL et WINTEMBERGER (1928) par l'action des radiations.

dement réversibles ; par contre, les modifications produites par la chaleur et qui déterminent le retard de la plasmodiérèse, ne s'effacent que très lentement.

7) L'œuf chauffé pendant la mitose à une température minima mortelle parcourt plusieurs cycles de mitoses abortives : l'agglomération des chromosomes et la dispersion des particules chromatiques sont les aspects principaux de la désagrégation de la figure mitotique. A température plus haute l'évolution abortive des mitoses se limite à un seul cycle.

8) Ni l'agglomération des chromosomes ni la dispersion des grains chromatiques ne sont la cause de la mort de l'œuf. Après reconstitution nucléaire (qui termine chaque cycle), les altérations produites sont encore réversibles. La mort de l'œuf doit être attribuée à des altérations plus profondes du protoplasme cellulaire.

9) Une mitose normalement constituée (bien qu'elle ait été commencée à une température élevée), se termine normalement si l'œuf est à ce moment transporté dans l'eau froide, tandis que la dispersion de la chromatine a lieu même après retour dans l'eau froide si l'agglomération des chromosomes a déjà eu le temps de se produire.

10) L'action de la chaleur produit un accroissement de l'hétérogénéité protoplasmique qui se révèle par l'apparition de cytasters.

11) Les mitochondries subissent des modifications irréversibles aux environs de 50°.

12) Le vacuome réagit à la chaleur par l'augmentation de la taille et la multiplication du nombre des vacuoles, attribuables à une absorption d'eau.

13) Les altérations produites par la chaleur permettent une analyse du phénomène de la division cellulaire, en dissociant certains mécanismes, tels que : la plasmodiérèse et la caryocinèse, l'évolution de la figure mitotique et la synthèse des substances nucléaires, etc.

CHAPITRE III

Coefficients de température des processus biologiques.**Coefficients de température
des premiers stades du développement de l'œuf.**

Les travaux relatifs aux coefficients de température des différents processus biologiques sont très nombreux. Dans la presque totalité de ces travaux, on retrouve, à peu de chose près, la même préoccupation d'identifier la nature des différentes manifestations vitales en comparant leurs coefficients de température à ceux des réactions chimiques, physiques, etc.

Les premières pages de ce chapitre seront consacrées à la description de ces travaux ; je montrerai ensuite pourquoi la poursuite des recherches, dans cette même voie classique, me semble, au moins actuellement, peu fructueuse. Enfin, dans les pages suivantes, je décrirai mes propres expériences, qui sont à considérer comme une tentative de se servir des coefficients de température d'une manière différente, -- en tant que moyen d'analyse d'un processus biologique complexe, la division cellulaire.

Je tiens à souligner dès maintenant que je n'ai point cherché à établir une loi générale de l'action de la température, chose qui me semble impossible actuellement étant donné le nombre de facteurs qui entrent en jeu quand il s'agit de phénomènes biologiques.

Le matériel qui a servi à mes expériences était constitué, la plupart du temps, par l'œuf d'Oursin. Quelques expériences faites sur les œufs d'*Ascaris* sont venues compléter les résultats obtenus sur l'œuf d'Oursin.

**A. VITESSES DES RÉACTIONS CHIMIQUES
ET LA LOI DE LEURS VARIATIONS EN FONCTION
DE LA TEMPÉRATURE**

L'influence de la température sur la vitesse des réactions chimiques a été formulée pour la première fois avec préci-

sion par BERTHELOT (1862), qui représenta cette influence par la formule :

$$k_1 = a.b^{t_1}$$

dans laquelle k_1 est la constante de vitesse à la température t_1 et a et b des constantes.

Cette formule se vérifie très bien dans nombre de cas. Partant de la formule :

$$\log. k = a + bT$$

VAN'T HOFF (1884) a formulé d'abord une règle empirique, d'après laquelle le rapport des durées d'un processus à deux températures t et $t+10^\circ$ serait une constante comprise entre 2 et 3 ⁽¹⁾.

Une élévation de la température de 10° doublerait ou triplerait donc la vitesse de réaction. Une telle accélération n'est pas prévisible d'après la théorie cinétique. D'après celle-ci une élévation de la température de 10° correspondrait, dans le cas le plus favorable, à une augmentation de l'énergie cinétique de 1 à 2 % seulement.

ARRHÉNIUS (1889) a fait l'hypothèse de l'existence de deux sortes de molécules : les molécules passives et les molécules dissociées actives. Dans une réaction chimique, seuls les chocs des molécules actives seraient efficaces.

Partant de cette hypothèse, ARRHÉNIUS est arrivé à la formule empirique :

$$k_{t_2} = k_{t_1} e^{A \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)}$$

où k_{t_1} est k_{t_2} sont les constantes des vitesses de réaction aux températures respectives t_1 et t_2 , e la base des logarithmes naturels et $A = \frac{q}{R}$ (q — chaleur de transformation des molécules passives en molécules actives ; R — la constante des gaz). Comme R est voisin de 2, A serait la moitié de la

⁽¹⁾ C'est cette règle empirique de VAN'THOFF (*RGT-Regel* des allemands) qui a été le point de départ d'un nombre considérable de travaux biologiques dont je parlerai plus bas.

chaleur de transformation des molécules passives en molécules actives.

MARCELIN a établi, à partir de la théorie cinétique et de la thermodynamique, l'expression de la vitesse de réaction en fonction de l'énergie d'activation.

Notons que certains auteurs remplacent dans la formule d'ARRHÉNIUS A par $\frac{\mu}{2}$ et désignent l'énergie d'activation tantôt sous le nom d'incrément ou d'accroissement thermique, tantôt sous celui d'énergie d'activation.

B. LES COEFFICIENTS DE TEMPÉRATURE EN BIOLOGIE

L'action accélératrice de l'élévation de la température sur les processus biologiques est connue depuis longtemps. Des données nombreuses à ce sujet ont été accumulées par différents auteurs au cours du XIX^e siècle. Des études précises n'ont commencé cependant que plus tard à la suite des travaux de VAN'T HOFF (1896), qui, le premier, attira l'attention sur l'analogie de l'action de la température sur les processus chimiques et vitaux.

Les observations de VAN'T HOFF ont été généralisées par lui-même sous la forme suivante : « Une élévation de la température de 10° double ou triple la vitesse de la réaction ». L'accélération de la vitesse de réaction produite par un tel accroissement de la température a été désignée sous le nom de « *coefficient de température* » ou par le signe conventionnel Q_{10} . La généralisation telle que je viens de la définir peut s'écrire

$$Q_{10} = \frac{V_{t+10}}{V_t} = \text{Constante, comprise entre 2 et 3.}$$

Depuis ce travail fondamental de VAN'T HOFF et jusqu'à ces derniers temps, une quantité véritablement énorme de travaux, ayant pour objet l'action de la température sur les vitesses des processus biologiques les plus variés, ont paru. La liste suivante, qui est loin d'être complète, est

citée uniquement pour montrer sur quelle diversité de phénomènes l'action de la température a été étudiée :

- Battements du cœur.
- Contractions rythmiques et arythmiques des muscles.
- Rythme respiratoire.
- Pulsations des vacuoles des Protistes.
- Excitation des nerfs.
- Réaction géotropiques et phototropiques des plantes.
- Courants protoplasmiques.
- Mouvement amiboïde et ciliaire.
- Action des toxiques.
- Perméabilité.
- Durée de vie.
- Vitesse de croissance.
- Segmentation, développement, parthénogénèse.
- Respiration. (Absorption d'O², dégagement de CO².)
- Coagulation du sang, etc.

Cette liste ne contenant que des titres généraux est, je le répète, loin d'être complète. Une liste complète comporterait plus de quatre cents titres et ne peut être citée ici faute de place. Une telle citation serait par ailleurs inutile, car l'orientation de tous ces travaux est facile à définir en peu de mots.

Le but de la très grande majorité des chercheurs était de se rendre compte de la nature des phénomènes en jeu en comparant les coefficients de température trouvés à ceux des réactions chimiques. Le résultat de tous ces travaux, presque sans exception, était l'affirmation de la règle de VAN'T HOFF. La conclusion qu'on retrouve, pour les phénomènes biologiques, les coefficients de température des réactions chimiques, avec tout ce qui en découle logiquement, est devenue classique.

Cependant, l'inspection attentive de beaucoup de ces données permettait déjà de conclure que la règle de VAN'T HOFF, telle que je l'ai formulée plus haut, était trop schématique et que l'action de la température sur certains

processus biologiques entre difficilement dans son cadre. Cette conclusion n'a été formulée pourtant qu'à vers 1914 dans les travaux de KROCH et de KROGH et JOHANSEN.

Les arguments qui sont venus s'opposer à l'affirmation de la règle de VAN'T'HOFF sont de deux sortes : les uns concernent les valeurs absolues des coefficients de température, les autres leur variation le long de l'échelle thermique.

1° Les valeurs absolues des coefficients de température des processus biologiques ^{quel} n'entrent pas toujours dans les limites étroites indiquées par la règle de VAN'T'HOFF. Aussi bien des valeurs inférieures que supérieures à 2-3 ont été fréquemment observées.

Des coefficients de température très élevés ont été trouvés par exemple par LOEB (1908), pour la durée de vie des œufs d'Oursin (Q_{10} moyen = 1024), par FAMULENER et MADSEN (1908) pour la destruction des ferments (Q_{10} = 1000 à 14.000) (1).

Comme exemple de phénomènes présentant des coefficients de température moins exceptionnels, mais se plaçant encore en dehors des limites supérieures prévues par la règle de VAN'T'HOFF, je ne citerai que la régénération chez *Tubularia crocea*, qui, d'après MOORE (1910), présente un Q_{10} = 6,4 dans l'intervalle 8°-12° et la consommation d'O₂ par les nymphes du Ver de farine : d'après KROGH, ce phénomène présente un Q_{10} = 5,7 entre 10° et 15°. Il est donc certain d'après ces exemples que les coefficients de température des processus biologiques très divers peuvent avoir des valeurs très élevées.

Des réactions chimiques présentant des coefficients de température très élevées sont également connues. L'inversion du sucre par les ions H en est un exemple. (Q_{10}

(1) Les données de MOSSA (1926) m'ont permis (1929) de calculer les Q_{10} de l'accroissement de la fibre nerveuse de l'embryon de Poulet *in vitro* ; au voisinage de l'optimum thermique on trouve également des Q_{10} énormes (Q_{10} = 2445 pour l'intervalle 37°-38° C).

= 5,0 entre 0° et 10°). HALBAN ⁽¹⁾ croit de telles valeurs caractéristiques pour les réactions monomoléculaires, mais cette règle n'est certainement pas absolue.

Des valeurs inférieures à celles prévues par la règle de VAN'T HOFF sont également très fréquentes. Ainsi, par exemple, le mouvement protoplasmique dans *Elodea* présente, d'après KANITZ (1909), un $Q_{10} = 1,3$ dans l'intervalle 12°,5-26°. La multiplication de *B. enteritidis* présente un $Q_{10} = 1,6$ entre 26° et 31°. On trouvera, plus bas, dans les résultats de mes propres recherches, des exemples nombreux de Q_{10} inférieurs à 2.

2° La constance des coefficients de température le long de l'échelle thermique, telle qu'elle est prévue par la formule de VAN'T HOFF

$$\frac{V_{t+10}}{V_t} = k,$$

n'est que très rarement réalisée dans les processus biologiques.

Dans la très grande majorité des cas, au contraire, les coefficients de température varient et, plus précisément, diminuent à mesure que la température s'élève. Comme exemple, je citerai la segmentation de l'œuf d'*Ascaris megalocephala* qui, d'après FAURÉ-FREMIET (1913), présente les coefficients de température suivants :

Intervalle de température	Q_{10}
6°-16°	6,25
12°-22°	5,7
22°-32°	2,18

et celui de la consommation d'O₂ par les chrysalides du Ver de farine, dont les coefficients de température varient, d'après KROGH (1914), d'une manière analogue :

(1) Cité d'après KANITZ (1914).

Intervalle de température	Q_{10}
10°-15°	5,7
15°-20°	3,2
20°-25°	2,6
25°-30°	2,2
30°-32,5°	2,2

Les réactions chimiques présentent également des variations de leurs coefficients de température dans différents intervalles de température, mais cette variation est beaucoup plus faible ou, si l'on veut, beaucoup plus lente ; de sorte que l'on n'atteint les valeurs élevées des coefficients de température biologiques qu'en descendant à des températures extrêmement basses et tout à fait éloignées des limites thermiques biologiques. Cette variation des coefficients de température ne concordant pas avec la loi de VAN'T HOFF est, au contraire, prévue par la formule d'ARRHÉNIUS :

$$\frac{V_{t_2}}{V_{t_1}} = e^{A \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)}$$

La formule d'ARRHÉNIUS a été, en effet, vérifiée expérimentalement pour les réactions chimiques ; de même, dans un grand nombre de cas, elle s'applique très bien aux processus biologiques (MATISSE, 1921 ; CROZIER, 1924-1925, etc.). Il reste néanmoins une quantité de cas où les variations des coefficients de température prévues par l'équation d'ARRHÉNIUS ne sont pas suffisantes et où les courbes des vitesses en fonction de la température se rapprochent ou sont même exactement des droites ⁽¹⁾.

KROGH (1914), puis JOHANNSEN et KROGH (1914) ont étudié à ce point de vue la segmentation des œufs de Gre-

(1) Dans quelques cas particuliers les Q_{10} augmentent même à mesure que la température s'élève : tel est, par exemple le cas de l'accroissement de la fibre nerveuse *in vitro* (MOSSA, 1926, EPHRUSSI, 1929). Le même phénomène a été observé dans le cas des réactions fermentatives, pour l'action des narcotiques, etc. (voir EPHRUSSI 1929).

nouille, le développement des Poissons, la nymphose et la respiration de *Tenebrio molitor*. Ils trouvent pour tous ces phénomènes une relation linéaire entre les vitesses et la température, au moins dans un certain intervalle thermique.

Des calculs particulièrement complets d'après les chiffres de LOEB (1908) et de LOEB et VASTENEYS (1911) ont été faits par KROGH (1914) pour la segmentation des œufs d'Oursin (*Strongylocentrotus* et *Arbacia*). D'après KROGH, ici encore, la vitesse de segmentation est une fonction linéaire de la température et peut être exprimée par la formule :

$$V^{t_0 + 10} = V_{t_0} + K_{10}$$

où V_{t_0} et $V_{t_0 + 10}$ sont les vitesses aux températures respectives t_0 et $t_0 + 10^\circ$, et K une constante. K varie selon les espèces et est indépendant de la température, au moins pour un certain intervalle thermique ⁽²⁾.

Quelles peuvent maintenant être les causes de ces si fortes variations des coefficients de température biologiques ?

Parmi ces causes, la plus sérieuse réside certainement dans la viscosité protoplasmique. SNYDER (1911), puis ROGERS (1911) ont attiré l'attention sur l'importance que peut avoir ce facteur pour les valeurs absolues et pour la variation des coefficients de température biologiques. La viscosité des liquides est, en effet, très fortement influencée par la température ; les coefficients de température de la

⁽²⁾ KANITZ (1915) fait remarquer avec justesse que les points de la figure de Krogh que cet auteur réunit par une droite peuvent aussi bien servir pour tracer une courbe convexe. Mais il montre en plus que si, au lieu de porter en ordonnées les vitesses de segmentation, on y porte leur logarithme, on obtient deux droites qui forment un angle obtus (vers 13°C pour l'*Arbacia* et vers $9^\circ\text{-}10^\circ \text{C}$, pour *Strongylocentrotus*) ce qui veut dire que la droite de Krogh se compose en réalité de deux courbes exponentielles, satisfaisant chacune l'équation de BERTHELOT :

$$\log. k_1 = a + bt_1.$$

viscosité ⁽¹⁾ diminuent, comme ceux des réactions chimiques et des processus biologiques, à mesure que la température augmente, ce qui peut être démontré très clairement par l'exemple de l'huile de ricin, qui, d'après ARNDT ⁽²⁾ présente des coefficients de température suivants :

t_1-t_2	Q_{10}
0°-10°	2,5
5°-15°	2,46
15°-25°	2,3
25°-35°	1,9

PANTIN (1924) a étudié par la méthode de centrifugation la viscosité de l'œuf de *Nereis* et a essayé d'introduire une correction dans les calculs des coefficients de température de quelques processus biologiques, en tenant compte des coefficients de température de la viscosité. L'auteur se rend bien compte qu'une correction exacte exige la connaissance précise des variations de la viscosité protoplasmique pour chaque matériel d'étude. Mais faute de ces données, il corrige les Q_{10} des différents processus par les Q_{10} de la viscosité de l'œuf de *Nereis*. La correction est faite de la manière suivante :

$$Q_{10} \text{ corrigé} = \frac{Q_{10} \text{ observé}}{Q_{10} \text{ de la viscosité}}.$$

Les résultats de ces calculs sont donnés par le tableau ci-dessous :

Comme on le voit d'après ces chiffres, on obtient après correction une série de coefficients de température qui ne varient que très faiblement le long de l'échelle des températures. Les résultats de PANTIN sont, sans aucun doute, très suggestifs. Aussi, ne voudrais-je rien enlever à

(¹) Q_{10} signifie ici

$$\frac{\eta_{t^0}}{\eta_{t^0} + 10}$$

formule dans laquelle η est le coefficient de viscosité.

(²) Cité d'après SEREBROWSKY (1916).

Températures	0°-10°	5°-15°	10°-20°	15°-25°	20°-30°	22°5'-32°
Q_{10} de la viscosité (Nereis)	1.84	1.59	1.40	1.30	1.26	1.24
Mouvement ciliaire (GRAY, 1923) :						
Q_{10} observé	1.1	2.7	2.3	2.15	1.95	1.92
Q_{10} corrigé	3.68	1.70	1.64	1.65	1.55	1.55
Battement de cœur de la Tortue (SYNDER, 1905) :						
Q_{10} observé	10.2	3.5	2.2	2.1	1.9	1.9
Q_{10} corrigé	5.5	2.2	1.57	1.64	1.51	1.53
Températures	0°-5°	5°-10°	10°-15°	15°-20°		
Mouvement amiboïde (PANTIN, 1924) :						
Q_{10} observé	16.9	3.49	2.31	2.04	—	—
Q_{10} corrigé	8.55	1.87	1.53	1.53	—	—

leur valeur en disant qu'une très grande prudence doit être observée vis-à-vis de telles corrections, surtout en présence des résultats de HEILBRUNN (1924), qui montrent sur un autre matériel (œuf de *Cumingia*) que la variation de la viscosité en fonction de la température peut adopter des allures très particulières. Comme PANTIN l'a lui-même fait remarquer, une correction exacte ne pourrait donc être faite qu'en connaissant les coefficients de température de la viscosité de chaque objet d'étude. Ceci présente cependant actuellement de grosses difficultés techniques.

D'autres faits viennent également confirmer l'importance de la viscosité. C'est, en premier lieu, l'analogie des relations entre la viscosité et la température d'une part, entre la vitesse des processus biologiques et la température d'autre part.

ARRHÉNIUS (1896) a remarqué que les coefficients de température de la viscosité sont au maximum quand la viscosité est au maximum ; en d'autres termes, plus la viscosité est grande, plus fortes sont ses variations en fonction de la température.

SKRABAL (1916) a généralisé cette relation dans sa « règle des paramètres » (*Parameterregel*). Cet auteur entend par paramètres de la vitesse de réaction les différents facteurs qui influencent la vitesse des réactions chimiques, et écrit :

« Je rascher eine Reaction ist, um so geringer ist die Geschwindigkeitsänderung, welche sie durch Variirung der einzelner Parameter erfährt ». L'action de la température dépendra, d'après cette conception, en grande partie de la valeur initiale de la viscosité. C'est, en effet, ce que l'on observe. Comme la viscosité est d'ordinaire maxima aux températures basses, les coefficients de température les plus élevés se rencontrent également dans le bas de l'échelle thermique.

La même relation semble exister entre les vitesses des processus biologiques et leurs coefficients de température. La grandeur du coefficient de température, c'est-à-dire la grandeur de l'accélération, dépend certainement de la

valeur initiale de la vitesse du phénomène. Plus la vitesse initiale d'un processus est petite, plus forte est son accélération.

Cette relation très importante entre la vitesse d'un processus et son accélération a été très clairement montrée par ROSSBACH (1872) et SEREBROWSKY (1916). ROSSBACH a tiré cette relation de la comparaison des fréquences de contraction des vacuoles de *Chilodon cucullatus*, *Stylonychia pustulata*, *Euplotes charon*; SEREBROWSKY est arrivé à la même conclusion par toute une série de comparaisons : la relation s'est vérifiée pour la vitesse de multiplication des différents Infusoires (*Leucophrys*, *Paramecium caudatum*, *Stylonychia*, *Paramecium aurelia*, *Frontonia leucas*), pour la vitesse de croissance de toute une série de champignons, pour la vitesse de segmentation des œufs d'Oursin.

Dans tous ces cas, la relation indiquée est assez nette et ne comporte que peu d'exceptions. Elle perd cependant un peu de sa valeur convaincante du fait même que la comparaison se fait entre espèces différentes.

Un cas tout à fait exceptionnel à ce point de vue est donné dans le travail déjà mentionné de HORSTADIUS (1925), qui montre que la vitesse de segmentation des œufs d'Oursin (*Paracentrotus lividus*) de Naples n'est pas la même en hiver et en été, *aux mêmes températures*.

Les chiffres de HORSTADIUS m'ont permis de calculer les coefficients de température. On a :

	Durée de la division		Q ₁₀
	à 13°	à 26°	
Œufs d'hiver	71 m	30,8 m	1,9
Œufs d'été	91 m	25 m	2,7

La relation indiquée, se vérifie donc également dans ce cas très important.

Dès lors, on peut songer à expliquer les différences dans la forme des courbes des vitesses par les différentes modalités de la variation de la viscosité en fonction de la température. Un essai très intéressant a été fait dans cette voie par SEREBROWSKY (1916).

D'après BINGHAM (1909), l'action de la température sur la viscosité s'exerce de deux manières différentes : d'une part, la distance entre les molécules augmente avec la température ; d'autre part, le degré d'association des molécules se trouve modifié. L'auteur suppose qu'à partir d'une certaine température à laquelle s'achève la dissociation des agrégats moléculaires, la fluidité devient une *fonction linéaire de la température*.

SEREBROWSKY (1916) cherche à appliquer l'hypothèse de BINGHAM aux vitesses des processus biologiques. Il pense que cette hypothèse : 1° peut expliquer les cas où ces vitesses sont une fonction linéaire de la température ; 2° qu'elle peut, et c'est là le point important, réduire la différence entre les cas où une relation linéaire se trouve réalisée et ceux où elle ne l'est pas, à une différence de position, sur l'échelle thermique, de la température « critique » à laquelle s'achève la dissociation des agrégats moléculaires.

Les conceptions actuelles de la viscosité exigent cependant l'introduction de quelques corrections dans ces hypothèses.

D'abord BINGHAM suppose que l'écartement des molécules, augmentant avec la température, joue un rôle important dans les variations de la viscosité. S'il en était ainsi, la viscosité devrait changer comme la densité. Or, on sait actuellement qu'il n'en est rien : tandis que les variations de la densité en fonction de la température sont très faibles, les variations de la viscosité dans le même intervalle thermique sont beaucoup plus grandes.

D'autre part, la fluidité n'est pas non plus, une fonction linéaire de la température. C'est plutôt l'agitation thermique qui diminue la cohésion des molécules polarisées et associées (qui nous intéressent surtout) et produit, par conséquent, une diminution de la viscosité et de la rigidité viscosimétrique à mesure que la température augmente. La dissociation des agrégats micellaires des colloïdes protoplasmiques varie très rapidement avec la température, et ce sont plutôt les variations très fortes de la rigidité qui peuvent expliquer un fort changement d'allure des courbes

observées. On sait, en effet, que les colloïdes hydrophiles, tels que la gélatine, présentent aux basses températures des zones de brusque changement d'état physique réversible (sol $\rightleftharpoons$ gel) (SCHMIDT, MARINESCO), qui peuvent produire d'énormes augmentations de la rigidité (voir viscosité infinie des gels).

Dans ces conditions, on peut supposer que le protoplasma cellulaire aussi présente des changements brusques de rigidité aux températures basses. On comprendrait alors qu'au-dessous d'un certain point la *rigidité* vienne très fortement ralentir les phénomènes, tandis que au-dessous de ce point la *viscosité* seule et ses modifications en fonction de la température soient en jeu. Alors au-dessus de ce point les courbes pourraient se *rapprocher* de droites sans le devenir cependant, car la viscosité non plus n'est pas une fonction linéaire de la température. La situation d'un tel « point critique » sur l'échelle thermique peut évidemment varier d'une espèce cellulaire à l'autre, ce qui peut rendre compte des différences de la forme des courbes des vitesses des processus biologiques, se rapprochant plus ou moins de droites.

Cette interprétation n'est qu'une adaptation de l'hypothèse BINGHAM-SEREBROWSKY aux données modernes. Elle est aussi hypothétique que celle de SEREBROWSKY, et l'on peut, en outre, se demander si elle est vraiment applicable à des milieux aussi complexes que le protoplasme. Modifiée de telle sorte, elle ne peut qu'indiquer la direction dans laquelle on peut espérer trouver la solution du problème. Elle est, en effet, en accord avec quelques faits biologiques, tels par exemple que les cas où les vitesses sont une fonction linéaire de la température.

J'ai déjà dit plus haut que, d'après KROGH, les vitesses de toute une série de phénomènes biologiques sont une fonction linéaire de la température, au moins dans un certain intervalle thermique. On peut donc les représenter avec KROGH par l'équation d'une droite :

$$V_t = \alpha t + C$$

(V_t étant la vitesse à la température t^0 , C une constante et α l'accélération $\frac{\Delta V}{\Delta T}$ produite par l'élévation de la température).

V_1 et V_2 sont mesurables expérimentalement. On peut alors tirer α de l'équation :

$$\alpha = \frac{V_2 - V_1}{t_2 - t_1}$$

Si l'on admet que $V = 0$ à la température t_x , on a :

$$t_x = \frac{C}{\alpha}$$

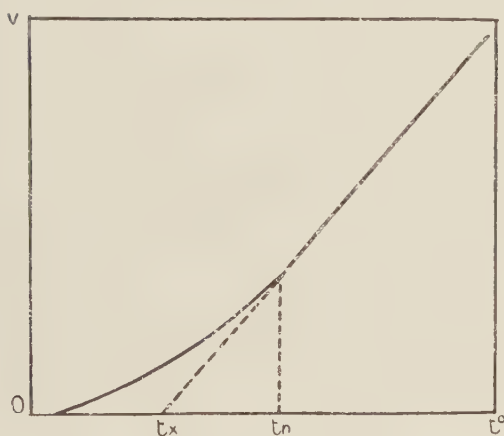


Fig. XIII. — Explication dans le texte.

t_x serait, par conséquent, la température à laquelle la vitesse doit être nulle si V était une fonction linéaire de la température dans toute l'échelle thermique (fig. XIII empruntée à SEREBROWSKY). En réalité, ceci n'a pas lieu, et $V = 0$ a une température plus basse que t_x . C'est à partir d'une certaine température t_n que la droite s'incurve, α diminue et la courbe coupe l'axe des x à une température plus basse que t_x (comparer p. 87).

* * *

Que signifient, en présence de tous ces faits, les valeurs absolues des coefficients de température ? Et d'une manière plus particulière, dans quelles mesures pouvons-nous nous servir des coefficients de température pour analyser un phénomène biologique ?

Plusieurs remarques sont à faire ici :

1° Comme nous venons de voir, les valeurs absolues des Q_{10} biologiques sont certainement très fortement influencées par la viscosité protoplasmique ; pour obtenir la valeur propre d'un coefficient de température, il faudrait faire la correction de viscosité. Ceci n'est pas possible actuellement dans la très grande majorité des cas, de sorte que nous ne pouvons espérer que peu de choses de la comparaison des valeurs numériques des Q_{10} .

2° A supposer même que l'on se débarrasse de ce facteur, soit en faisant la correction de la viscosité, soit en le tenant pour négligeable, on n'est pas en droit de conclure de l'identité des valeurs absolues des Q_{10} à l'identité des phénomènes, étant donné l'existence de phénomènes très différents présentant des coefficients de température très voisins ; on a trouvé, par exemple pour les réactions chimiques en milieu hétérogène, des $Q_{10} = 1,2 - 1,4$ et des valeurs extrêmement voisines pour des processus purement physiques : telle la diffusion des cristalloïdes ($Q_{10} = 1,1$ à $1,2$).

3° On a admis que les $Q_{10} = 2-3$ sont caractéristiques des réactions chimiques ; mais on a vu plus haut que de telles valeurs peuvent facilement être obtenues pour des processus à coefficients de température très bas, mais dans lesquels le rôle de la viscosité est important.

4° Il est également imprudent de conclure, comme on l'a souvent fait, de valeurs très basses des Q_{10} à la nature physique d'un phénomène. WARBURG (1921) a montré que les vitesses de beaucoup de processus biologiques sont différentes, suivant la nature du milieu dans lequel elles se produisent. Ceci est d'ailleurs également connu pour

les réactions chimiques. VICTOR HENRI (1912) cite par exemple, pour des réactions chimiques d'ordre différent, les valeurs des Q_{10} suivantes :

Réactions chimiques en milieu homogène	2,3
» » » hétérogène	1,2
» » » microhétérogène	
(Réactions colloïdales).....	1,4

Des réactions chimiques se produisant dans un milieu hétérogène peuvent donc présenter des Q_{10} très petits. Pouvons-nous dans ces conditions être sûrs qu'une réaction intracellulaire, purement chimique, aura un $Q_{10} = 2-3$? Certes non, car, dans le cas de la cellule, il s'agit d'un système colloïdal. Aussi, ne savons-nous que peu de choses de l'action de la température sur le degré d'hétérogénéité cellulaire.

Mais il y a plus : on connaît d'autre part des réactions chimiques sur lesquelles la nature (Homo- ou hétérogénéité) du milieu n'a qu'une influence négligeable. Savons-nous à laquelle de ces deux catégories appartient un processus biologique donné? Sans doute très rarement.

5° SEREBROWSKY, ne pouvant se satisfaire de la seule comparaison des valeurs numériques des Q_{10} , a proposé (et essayé) de comparer en plus leurs variations en fonction de la température. Cette méthode, plus complète si l'on veut, présente cependant également beaucoup de difficultés, qui diminuent beaucoup son champ d'action. La grande difficulté, ici, est encore la viscosité qui, différente dans les différents cas, influence aussi différemment les processus à analyser.

La connaissance précise des variations de la viscosité serait donc également nécessaire pour la détermination de la part qui lui revient dans chaque cas, dans la variation des coefficients de température. Or, même les mesures de la viscosité relative nous sont actuellement inaccessibles dans une très grande quantité de cas.

6° La méthode que propose SEREBROWSKY ne peut nous

satisfaire surtout parce qu'elle ne peut nous aider dans l'analyse des processus complexes telle que la majorité des phénomènes biologiques. Dans ces processus complexes, ayant à la base plusieurs réactions plus simples, cette méthode ne nous permet d'étudier que les valeurs moyennes des Q_{10} si les réactions composantes jouissent d'un certain « degré de liberté », soit le Q_{10} d'une seule d'entre ces réactions, si, conformément aux idées de PUTTER (1914), il s'agit d'une « réaction contrôlante ».

7^o Enfin, pour terminer, je dois m'arrêter un instant encore sur quelques relations qui semblent exister entre les valeurs des coefficients de température et les limites thermiques supérieures et inférieures des processus biologiques qui influencent les valeurs absolues des Q_{10} , ainsi que leur variation en fonction de la température, et qui rendent encore plus difficiles les comparaisons.

Pendant très longtemps, on a considéré les Q_{10} tout à fait indépendamment des limites thermiques du phénomène étudié. Or, dans son travail déjà mentionné, SEREBROWSKY (1916) établit une relation entre ces facteurs : il semble que la valeur absolue d'un coefficient de température est d'autant plus grande que l'intervalle thermique étudié est éloignée de la limite thermique supérieure du phénomène. SEREBROWSKY a généralisé sa constatation sous la forme suivante : « A une distance égale de la température optimale les Q_{10} doivent avoir des valeurs approximativement égales » (1).

SEREBROWSKY a tiré les relations indiquées de la comparaison des Q_{10} , des limites thermiques et des vitesses de segmentation (ou de multiplication) d'espèces différentes. En me servant, comme plus haut, des données de HORSTADIUS (1925), j'ai calculé les Q_{10} de la segmentation des

(1) Dans un travail récent ZAVADOWSKY (1927) a étudié au même point de vue le développement de l'*Ascaris megalocephala*, *Ascaris suilla* et de *Toxascaris limbata* et trouve que la relation indiquée n'est que très approximative.

œufs d'hiver et d'été des Oursins de Naples. Ces Q_{10} présentent dans l'intervalle 13°-26° les valeurs suivantes :

$$\begin{aligned} Q_{10} &= 2,7 \text{ en été,} \\ Q_{10} &= 1,9 \text{ en hiver ;} \end{aligned}$$

les limites thermiques sont : en été, 16°-29° ; en hiver, 8°-23° ; la relation de SEREBROWSKY se vérifie donc également ici. Mais s'il en est ainsi, si les valeurs des Q_{10} sont (ne serait-ce qu'en partie) fonction de la situation de la limite thermique supérieure, il ne faut pas oublier que dans le même travail de SEREBROWSKY, on trouve la démonstration du fait que cette limite thermique supérieure n'est pas quelque chose d'absolument fixe pour un matériel donné et qu'au contraire, elle varie très fortement, selon le « passé thermique » de ce dernier. Car, non seulement la température finale joue un rôle ici, mais encore la grandeur de la « différence thermique ». On conçoit combien cette condition rend difficile les comparaisons entre Q_{10} .

C. LES COEFFICIENTS DE TEMPÉRATURE DES DIFFÉRENTES PHASES DE LA MITOSE

Dans les expériences dont les résultats seront exposés dans les pages suivantes, j'ai tenté de me servir des coefficients de température comme moyen d'analyse d'un phénomène complexe : la division cellulaire. Ma méthode consiste, comme on le verra, à comparer les Q_{10} des différents processus (stades) *entre eux*. Tenant compte de ce qui a été dit plus haut, on peut admettre que des Q_{10} différents nous indiqueront dans la majorité des cas des phénomènes d'ordre différent. Mais l'inverse n'est pas vrai. Aussi, ne doit-on conclure à la nature analogue de deux processus présentant des coefficients de température semblables que quand une certaine analogie peut être établie *a priori* et quand cette comparaison pourra servir de vérification de l'hypothèse. Je m'attacherai donc le moins possible aux valeurs absolues des Q_{10} , leurs valeurs relatives devant être, à mon avis, beaucoup plus suggestives.

J'ai adopté le calcul de Q_{10} et non pas de μ pour plusieurs raisons. La première, c'est que la détermination de μ nécessite le travail à des températures très variées. Ceci n'a pas été possible pour le genre d'expériences que j'avais en vue. Mais, d'autre part, le calcul de μ n'a de sens que si l'on admet *à priori* que le processus dont on mesure l'accélération est le processus « contrôlant » des vitesses de tous les autres processus ayant lieu en même temps. Or, tout ce que nous a appris l'étude cytologique exposée dans le chapitre précédent prouve, au contraire que les différents processus composant la mitose jouissent, les uns par rapport aux autres, d'une grande indépendance (ce fait sera encore confirmé par l'étude même des Q_{10}).

Ceci étant, le choix de la formule n'avait plus beaucoup d'importance, et j'ai adopté celle qui permet un calcul facile et rapide. La formule de PETER (1905) :

$$\text{Log } Q_{10} = \frac{10}{t - t_0} \cdot (\log \theta_{t_0} - \log \theta_t)$$

permet de calculer, à partir des durées d'un phénomène mesurées à deux températures quelconques l'accélération de cette vitesse rapportée à une élévation de la température de 10°. Dans cette formule t_0 désigne la température plus basse, t la température plus élevée, θ_t et θ_{t_0} les durées (établies expérimentalement) aux deux températures respectives t et t_0 .

1. — Coefficient de température du développement de l'œuf

a) Historique. — Il n'existait jusqu'à ces dernières années que des données fort incomplètes sur les coefficients de température de la division cellulaire.

PETER (1905) a trouvé respectivement pour le développement des œufs de *Sphaerechinus* et de *Echinus*, dans l'intervalle de température de 14°-25° des coefficients $Q_{10} = 2,15$ et $2,13$ ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Ce sont des moyennes calculées à partir de 20 chiffres. Pour l'œuf de *Sphaerechinus*, PETER trouve par exemple :

Ces coefficients varient au cours du développement. PETER trouve pour la segmentation et les stades ultérieurs, les valeurs suivantes :

	<i>Sphaerechinus</i>	<i>Echinus</i>
Segmentation	2,29	2,30
Stades ultérieurs ..	2,03	2,08

Il fait ensuite un calcul des coefficients de température du développement de l'œuf de Grenouille (d'après les chiffres de O. HERTWIG, 1898), et trouve, pour le même intervalle de température (14°-25°) les valeurs suivantes :

Segmentation	2,23
Stades ultérieurs	3,34

La moyenne du développement entier est :

$$Q_{10} = 2,86.$$

Il montre, en outre, que les valeurs des coefficients de température varient suivant l'intervalle des températures considérées ; ainsi, pour l'œuf de Grenouille, il trouve par exemple :

$$Q_{10} = 2,26 \text{ entre } 24^{\circ} \text{ et } 10^{\circ},$$

$$Q_{10} = 3,28 \text{ entre } 14,5^{\circ} \text{ et } 2,5^{\circ}.$$

PETER conclut de ces recherches que toutes ces valeurs, se groupant autour de 2 et 3, sont caractéristiques des coefficients de température des réactions chimiques.

Plus tard, Jacques LOEB (1908) a mesuré les vitesses des deux premières divisions de l'œuf de *Strongylocentrotus purpuratus*. Pour la première bipartition, il trouve les valeurs suivantes :

Stade II : 2,13. Blastula : 3,17 ; 2,06 ; 2,06 ; 1,84 ; 1,73.
 Stade IV : 2,54 ; 2, 16. Apparition du mésenchyme : 2,62.
 Stade VIII : 2,69 ; 2,11. Migration du mésenchyme : 2,05.
 Stade XVI : 2,43. Apparition du squelette : 1,76 ; 1,47.
 Stade XXXII : 2,22 ; 1,94 ; 2,38. Squelette forme : 1,49 ; 1,77.
 Je reviendrai plus bas sur la valeur des moyennes.

Q_{10}	Intervalle de température
3,91	3°-13°
3,88	4°-14°
3,52	5°-15°
3,27	7°-17°
2,04	9°-19°
1,90	10°-20°
1,74	12°-22°

et pour la seconde :

3,33	5°-15°
2,63	7°-17°
2,40	9°-19°
1,91	10°-20°

LOEB calcule la moyenne de ces chiffres. (FAURÉ-FREMIET (1925), fait remarquer, à juste titre, que ces moyennes n'ont aucune signification). Il trouve $Q_{10} = 2,86$ pour la première division. Cette valeur est égale au coefficient de température calculé par PETER pour l'œuf de Grenouille, ce qui prouve, d'après LOEB, la généralité de ce chiffre et sa parfaite concordance avec les coefficients de température des réactions chimiques. Il explique les valeurs plus basses trouvées par le même auteur pour les deux espèces d'Oursin par le fait que PETER opérait à des températures plus hautes. D'autre part, la valeur trop faible du coefficient Q_{10} moyen trouvé par LOEB lui-même pour la seconde bipartition de l'œuf de *Strongylocentrotus purpuratus* (2,56), doit s'expliquer par l'omission de certains intervalles de température. (3° à 13°, 4° à 14°, etc.). Une telle omission peut certainement influencer la valeur de la moyenne, mais elle ne peut pas expliquer pourquoi les valeurs sont différentes pour des intervalles de température identiques (par exemple 7° à 17°, 9° à 19°).

Il n'existait pas d'études plus détaillées sur l'œuf d'Oursin. Des études un peu plus complètes ont été faites par FAURÉ-

FREMIET (1924), sur l'œuf de *Sabellaria alveolata*, et par JOLLY (1904), sur les hématies du *Triton*.

FAURÉ-FREMIET donne dans son travail des courbes des durées, en fonction de la température, des stades suivants : premier fuseau, premier globule polaire, deuxième globule polaire, stade II, figure cordiforme ; mais il ne calcule pas les coefficients de température que pour la première mitose de maturation. J'ai fait, d'après les chiffres de FAURÉ-FREMIET, le calcul des coefficients Q_{10} des quatre premiers stades dans l'intervalle 13°-23°. J'ai trouvé ainsi :

Pour le stade	Q_{10}
Premier fuseau	2,5
Premier globule polaire	1,4
Deuxième globule polaire	1,4
Stade II	1,3

Retenons seulement de ces chiffres que l'accélération de tous les stades ne semble pas être la même dans un même intervalle de température.

Enfin, JOLLY établit la chronologie, à différentes températures, des diverses phases de la mitose des hématies du *Triton*, mais il ne calcule pas les coefficients de température. Ce calcul est fait plus tard par PETER (1924). D'après les chiffres obtenus par cet auteur, le degré d'accélération des différents stades apparaît également comme essentiellement variable ; mais PETER en tire des conclusions qui sont importantes au point de vue où je me place dans ce travail, et j'y reviendrai plus bas, au sujet de mes propres résultats et conclusions.

De même, je ne parlerai pas ici des observations de FAURÉ-FREMIET (1913) sur l'œuf d'*Ascaris megalocephala*, pour les discuter plus bas, au sujet de mes expériences sur le même matériel.

Enfin, je ne citerai que plus loin les résultats des recherches de BUCCIANTE, dont les publications sont postérieures aux miennes et qui sont venues confirmer les conclusions

que j'ai tirées de mes premières expériences sur l'œuf d'Oursin et l'œuf d'*Ascaris*.

b) *Coefficients de température du développement de l'œuf d'Oursin entre la fécondation et le Stade II et entre la fécondation et l'éclosion de la larve nageante.* — J'ai mentionné plus haut que LOEB (1908) a déterminé le Q_{10} des premières deux divisions de segmentation de l'œuf d'Oursin. KROGH s'est servi des chiffres de LOEB pour affirmer que la vitesse de segmentation est une fonction linéaire de la température. KANITZ a cependant fait remarquer que la figure de KROGH ne permet pas une telle affirmation, étant donné la grande dispersion des points expérimentaux autour de la droite.

J'ai donc repris ces expériences. J'ai déterminé les durées de l'évolution de l'œuf d'une part entre la fécondation et le stade II ; d'autre part, entre la fécondation et l'éclosion de la larve nageante.

Les chiffres des tableaux ci-dessous donnent les résultats de ces expériences, ainsi que les Q_{10} calculés à partir des chiffres expérimentaux. :

Durée du développement jusqu'au stade II (en minutes)		1/D	Q_{10}
T°			
10°,45	170	589	} 3,87
11°,00	160	625	
12°,9	122	820	
13°,8	110	910	} 3,49
14°,9	95	1,052	
18°,5	67	1,493	2,64
20°,95	57	1,755	1,93
22°,45	51	1,962	2,09
24°,15	47	2,130	1,61
24°,9	47		
26°,3	45 (devient anormal)		

T°	Durée moyenne du dev. jusqu'à la larve nageante	Q ₁₀
10°,1	24 h. 28 min.	5,6
12°,1	17 h. 20 min.	
14°,0	13 h. 18 min.	4,02
17°,5	10 h. 02 min.	2,23
20°,3	8 h. 07 min.	2,18
22°,5	7 h. 00 min.	1,96
25°,0	6 h. 08 min.	1,69

Les courbes de la figure XIV représentent la variation correspondante de la durée du développement, tandis que

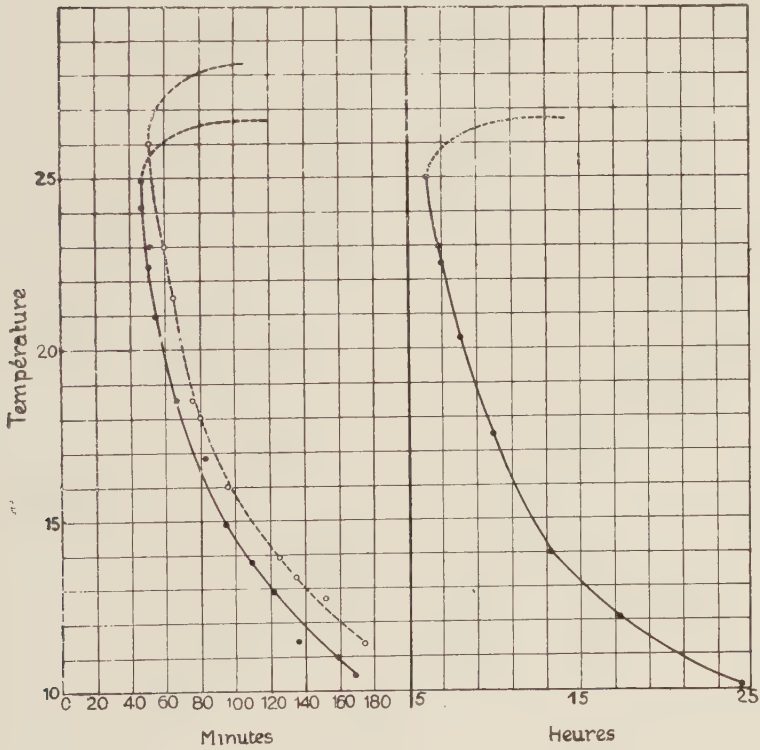


Fig. XIV. — A gauche : durées de la première division en fonction de la température. A droite : durée du développement jusqu'à la larve nageante en fonction de la température.

les figures XV et XVI représentent l'évolution des Q_{10} . Il est facile de constater que l'évolution des Q_{10} de la première division et des stades ultérieurs sont différents ; un écart particulièrement important est réalisé aux basses températures.

La troisième colonne du premier tableau indique les vitesses du développement $\frac{I}{\text{Durée}}$ de l'œuf jusqu'au stade II et le graphique de la figure XVII, construit d'après ces chiffres, montre que la vitesse du développement est bien une fonction linéaire de la température entre 13°

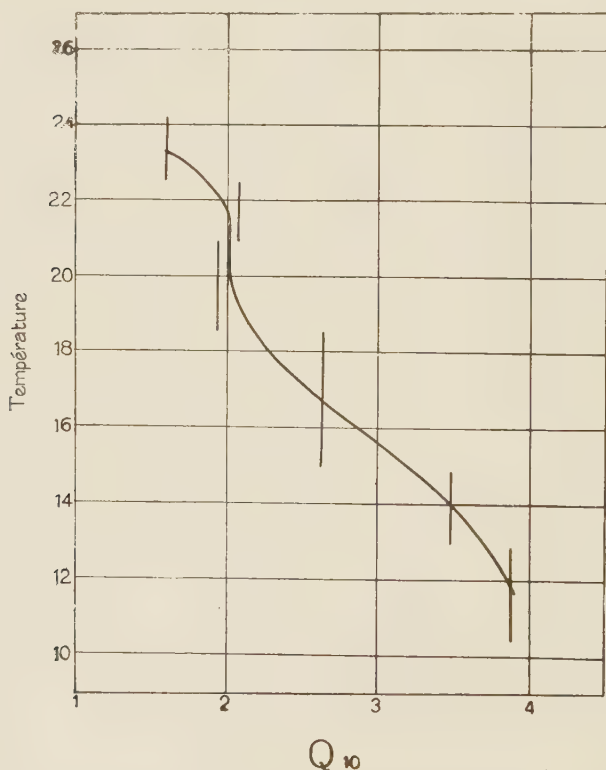


Fig. XV. — Variations en fonction de l'intervalle thermique du coefficient de température du développement de l'œuf jusqu'au stade II.

et 24°. C'est au-dessous de 13° que la droite s'infléchit pour couper l'axe des X à un endroit correspondant à des températures plus basses que ne ferait prévoir l'examen de sa partie linéaire (comparer p. 75).

2. — *Les Q_{10} des différentes phases de la mitose. — L'œuf d'Oursin (Première série d'expériences.)*

Dans cette première série d'expériences, j'ai étudié les coefficients de température des différentes phases de la première mitose de segmentation de l'œuf d'Oursin (*Paracentrotus lividus* Lk), dans l'intervalle de température :

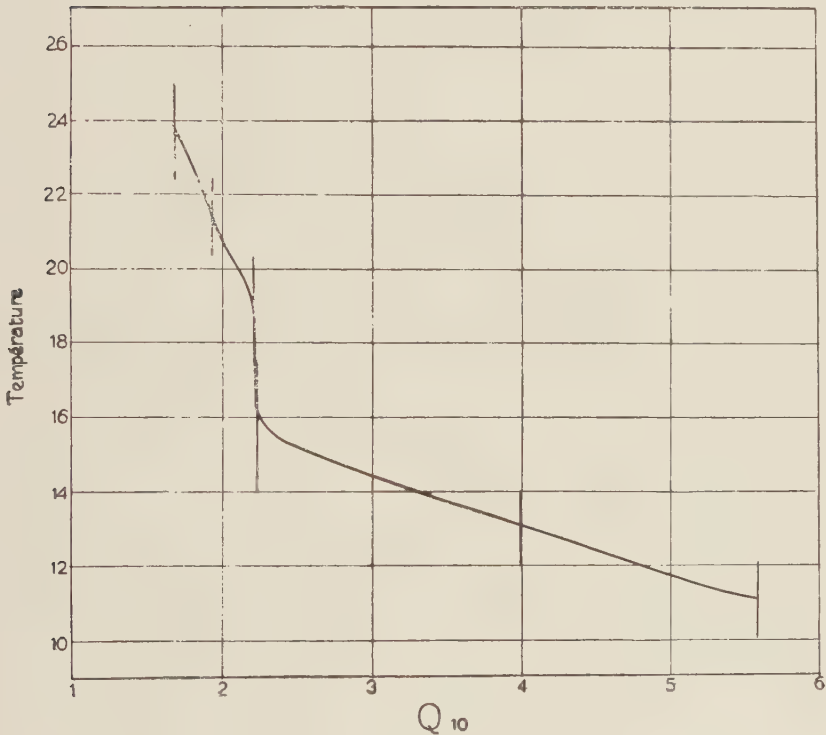


Fig. XVI. — Variations en fonction de l'intervalle thermique du coefficient de température du développement de l'œuf jusqu'à la larve nageante.

18°, 5-26°. A ces deux températures, le développement des œufs est normal ⁽¹⁾.

Mes déterminations ont été faites sur du matériel fixé à des intervalles réguliers de 2 minutes.

J'ai fait le calcul des coefficients Q_{10} de deux manières différentes :

1° En considérant le temps de la fécondation au moment d'installation d'un stade donné ;

2° En considérant les durées absolues des différents stades (c'est-à-dire le temps qui s'écoule entre le début et la fin d'une phase donnée).

Stade	Moment de l'installation (en minutes)		Q_{10}
	à 18°5	à 26°	
Gonflement complet de la tête sperm..	10	7	1,60
Aster au maximum	10	6	1,97
Accolement des pronuclei	10	8	1,34
Aster mâle entoure les noyaux	12	10	1,27
Copulation des pronuclei	18	14	1,39
Dédoulement de l'aster	18	16	1,16
Rétraction des asters	35	28	1,34
Disparition de la membrane nucléaire..	48	28	1,87
Plaqué équatoriale constituée	52	32	1,91
Division des chromosomes	56	36	1,80
Début de l'anaphase	59	39	1,73
Fin de l'anaphase	65	43	1,73
Formation des caryomérises	68	46	1,68
Etranglement	71	47	1,73
Reconstitution des noyaux	74	50	1,68
Stade II (cloisonnement complet)	76	51	1,70

(1) Ces expériences ont été réalisées en 1926 lorsque les œufs se développaient normalement encore à 27°-28°.

Je citerai tout d'abord les coefficients de température de quelques stades d'évolution de l'œuf fécondé, calculés de la première façon.

Une rapide inspection de ces chiffres suffit pour se rendre compte que les coefficients de température de l'installation des différents stades varient dans d'assez larges limites. Et comme un certain nombre de ces stades sont certainement liés d'une façon intime entre eux, on comprend que la vitesse d'installation de ces stades doit dépendre de la durée absolue des stades antérieurs. Autrement dit, les

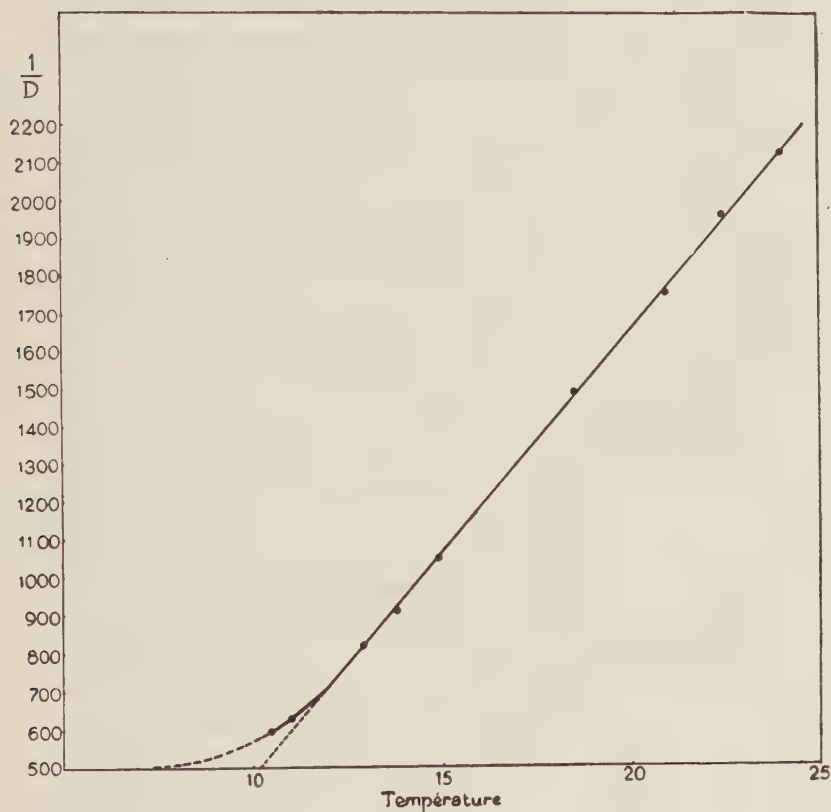


Fig. XVII. — Variation de la vitesse du développement de l'œuf jusqu'au stade II, en fonction de la température.

différences entre les valeurs des coefficients de température devront s'exagérer quand au lieu de considérer le moment d'installation d'un stade donné, nous allons considérer la durée absolue de celui-ci. Nous allons voir un peu plus loin que cette prévision est exacte.

* * *

J'ai parlé plus haut du rôle que la viscosité protoplasmique peut jouer dans la variation des coefficients de température et dans la détermination de leur valeurs absolues.

A priori, les vitesses de deux phénomènes doivent être influencées très appréciablement et, peut-être, uniquement par les variations de la viscosité protoplasmique ; c'est, d'une part, la migration de la tête spermatique de la périphérie de l'œuf vers son centre. Ce trajet est effectué en 10 minutes à 18°,5 et en 8 minutes à 26°. Le coefficient Q_{10} calculé à partir de ces chiffres est 1,34. D'autre part, la vitesse de la plasmodièrese semble devoir être influencée par les variations de la viscosité. Le temps nécessaire à l'achèvement de ce stade (calculé à partir du premier étranglement et jusqu'au cloisonnement complet des deux blastomères) est de 5 minutes à 18°,5 et de 4 minutes à 26°. Le coefficient de température est encore = 1,34.

J'ai supposé que les durées de ces deux processus sont inversement proportionnelles à la viscosité du protoplasma et la concordance parfaite des coefficients de température trouvés pour les deux processus rendent cette hypothèse infiniment probable et font penser que, réellement, l'accélération de ces stades est due uniquement aux variations de la viscosité protoplasmique.

Nous n'avons pas de données numériques précises (obtenues par la méthode de centrifugation) sur les variations de la viscosité de l'œuf d'Oursin en fonction de la température. D'après HEILBRUNN, ces variations doivent être analogues à celles qu'il a décrites pour l'œuf de *Cumingia*. Dans sa note, relative aux variations de la viscosité de

cet œuf, HEILBRUNN ne donne pas de chiffres, et j'ai essayé de calculer la vitesse du transport des granulations protoplasmiques d'après la courbe qu'il figure. Dans ces conditions, on trouve, pour le même intervalle de température que dans mon expérience, un coefficient $Q_{10} = 1,49$.

D'autre part, PANTIN (1924), qui a étudié par la même méthode l'œuf de *Nereis diversicolor*, donne pour les variations de la viscosité de cet œuf en fonction de la température, les valeurs suivantes des Q_{10} : 1,40 entre 10° et 20° et 1,26 entre 20° et 30°. Ces chiffres semblent en assez bon accord avec le nôtre, si l'on tient compte du fait que l'espèce étudiée n'est pas la même dans tous ces cas.

En apparence, un autre stade encore — l'anaphase — qui consiste essentiellement en un mouvement de déplacement, devrait être influencé de la même sorte par les variations de la viscosité. La durée de ce stade, c'est-à-dire la durée du déplacement des chromosomes de l'équateur du fuseau jusqu'à ses pôles, était dans notre expérience de 6 minutes à 18°,5 et de 4 minutes à 26°. Le coefficient Q_{10} calculé à partir de ces chiffres est = 1,71.

Comment expliquer ce désaccord avec les résultats décrits plus haut? Il est peu vraisemblable qu'une valeur si haute du coefficient de température soit déterminée par une variation de la force d'attraction par les astrosphères ou de la répulsion mutuelle des chromosomes. On peut plutôt supposer que la viscosité n'est pas la même aux deux stades de la mitose. HEILBRUNN (1921) a d'ailleurs montré que la viscosité du protoplasme varie au cours du cycle mitotique. Mais cet auteur emploie pour l'estimation de la viscosité, le procédé de la centrifugation. Il n'obtient donc qu'un résultat global. La microdissection a permis à CHAMBERS (1917) de mettre en évidence des variations de la viscosité protoplasmique, non seulement globales, selon les stades de l'évolution de l'œuf, mais encore *régionales*, qui sont tout à fait importantes, d'après cet auteur. On peut s'attendre alors à ce que les variations de la viscosité en fonction de la température soient différentes, selon la valeur initiale.

Il ne faut pas perdre de vue, d'autre part, que dans les cas de déplacement du spermatozoïde et de la plasmodiérèse, on mesure les vitesses d'un mouvement dans un milieu relativement homogène, tandis que l'anaphase se passe dans un milieu très hétérogène au point de vue de la viscosité. Enfin, nous savons que le fuseau est un édifice rigide à la température ordinaire, et il est probable que les variations de sa viscosité en fonction de la température sont plus fortes que celles du protoplasme semi-fluide.

Comparons maintenant un autre couple de coefficients de température. D'après la théorie de DELLA VALLE (1912), la prophase est considérée comme un phénomène de cristallisation de la chromatine et la télophase comme un phénomène encore du même ordre, mais à marche inverse (dissolution). Il serait intéressant de comparer les coefficients de température de ces deux processus.

En réalité, on trouve que le temps qui s'écoule entre le début de la disparition de la membrane nucléaire (disparition aux pôles du futur fuseau) et la constitution de la plaque équatoriale est de 4 minutes, aussi bien à 18°,5 qu'à 26°. Le coefficient de température est donc égale à l'unité. L'accélération semble nulle ⁽¹⁾. D'autre part, pour le phénomène inverse, compté de la fin de l'anaphase et jusqu'à la reconstitution des noyaux, on trouve :

$$Q_{10} = 1,39$$

(9 minutes à 18°,5 et 7 minutes à 26°), chiffre supérieur au précédent.

Ce chiffre peut être analysé davantage

Nous comptons :

de la fin de l'anaphase à la formation des caryomérîtes,
3 minutes, aussi bien qu'à 18°,5 qu'à 26° ;

de la formation des caryomérîtes à la reconstitution
des noyaux : 6 minutes à 18°,5 et 4 minutes à 26°

⁽¹⁾ J'ai dit plus haut en décrivant ma technique que les fixations ont été faites de 2 en 2 minutes. Une erreur est donc possible. Elle serait surtout appréciable dans le cas des petites durées.

Donc, respectivement :

$$Q_{10} = 1,00 \text{ et}$$

$$Q_{10} = 1,71.$$

La première partie du processus qui consiste essentiellement en une transformation d'état de la chromatine n'a donc pas été accélérée par l'action de la température ; ceci confirme donc bien le résultat précédent où le phénomène inverse, la « cristallisation » des chromosomes (donc également changement d'état de la chromatine) n'a pas subi d'accélération. Retenons donc que d'après ces deux premières mesures, les changements d'état de la chromatine ne subissent pas d'accélération appréciable par la température (ou bien que cette accélération est extrêmement faible) dans l'intervalle thermique considéré. D'après ces résultats également, nous voyons que ce n'est que la première période à coefficient $Q_{10} = 1,00$ qui est, pour ainsi dire, l'inverse de la prophase.

A quoi correspond la valeur plus élevée du coefficient de température trouvé pour la seconde période : formation des caryomérîtes —> reconstitution du noyau?

Il semble que le volume du noyau reconstitué est supérieur au volume total des caryomérîtes. Cette augmentation est probablement due à un gonflement (imbibition). Souvenons-nous que l'étude cytologique (p. 38), nous avait déjà conduit à la dissociation de ces deux phénomènes, auxquels nous conduit maintenant l'examen des coefficients de température.

J'ajoute que, conformément à ce qui a été dit dans la partie cytologique, je n'entends point par imbibition une simple absorption d'eau : nous avons vu, en effet, qu'il s'agit plutôt de la récupération du suc nucléaire qui a inondé le protoplasme de l'œuf au moment de la rupture de la membrane nucléaire.

Mais, nous avons vu dans la partie cytologique que la formation du pronucléus par le gonflement de la gaine hyaline de la tête spermatique relève vraisemblablement

d'un mécanisme analogue. Nous pouvons donc essayer de recouper le chiffre que nous venons de trouver pour la reconstitution des noyaux en déterminant le Q_{10} du gonflement de la tête spermatique. Le temps au bout duquel ce gonflement atteint son maximum est de 10 minutes à 18°,5 et de 7 minutes à 26°. Le Q_{10} calculé à partir de ces chiffres est donc :

$$Q_{10} = 1,60$$

valeur voisine de 1,71. Il est donc probable que le coefficient $Q_{10} = 1,71$ de la seconde période de reconstitution nucléaire correspond réellement à l'imbibition.

Plus haut, nous avons remarqué que les transformations de l'état de la chromatine ne sont pas accélérées par l'action de la température (ou ne le sont que très faiblement) au moins dans la marge des températures expérimentées. Si l'on mesure la durée totale du stade plaque équatoriale, c'est-à-dire dès son début (mise en place), jusqu'au début de l'anaphase (début de l'écartement des chromosomes), on constate que la durée de ce stade (qui est de 7 minutes) ne varie pas non plus sous l'influence de l'élévation de la température. On obtient le même résultat si au lieu de compter le temps jusqu'au début de l'anaphase, on le compte jusqu'à la division des chromosomes ($Q_{10} = 1,00$). Les résultats décrits plus haut sont donc confirmés encore dans ce cas.

Ainsi, nous avons passé en revue les transformations de la chromatine durant la mitose. Il nous reste à examiner un stade, « la pause », c'est-à-dire la période comprise entre la copulation des pronucléi et la disparition de la membrane nucléaire où la constitution de la plaque équatoriale. Remarquons tout de suite qu'il ne s'agit pas ici de transformations visibles de la chromatine, mais d'une phase qui précède immédiatement celles-ci.

On trouve un coefficient $Q_{10} = 2,33$ pour la durée du stade: copulation, $\longrightarrow$ disparition de la membrane nucléaire (30 minutes à 18°,5 et 16 minutes à 26°), et $Q_{10} = 2,31$ pour le stade: copulation $\longrightarrow$ plaque équatoriale (34 minutes à 18°,5 et 18 minutes à 26°).

Parmi tous les coefficients de température que nous avons examinés jusqu'ici les deux derniers présentent les valeurs les plus élevées et se rapprochent le plus de ceux des réactions chimiques. Rappelons à ce sujet les recherches de DEMOOR (1894), de BATAILLON (1919), de FAURÉ-FREMIET, etc, qui ont démontré que la présence d'oxygène et la condition indispensable de la mise en marche de la mitose. (L'oxygène n'est, au contraire, pas nécessaire pour l'achèvement d'une mitose commencée). Rappelons aussi, que les expériences décrites dans le chapitre II ont montré la plus grande sensibilité à la chaleur de ce même stade. On peut se demander si notre analyse ne nous a pas permis de localiser plus étroitement le stade dont une oxydation représente la partie essentielle.

* * *

Examinons maintenant les coefficients de température des différentes phases de l'évolution de la figure achromatique.

L'apparition de l'aster se fait 6 minutes après la fécondation à 18°,5 et 4 minutes après celle-ci à 26°. Le coefficient de température est $Q_{10} = 1,70$. La formation de la figure achromatique a été supposée être surtout un phénomène de gélification. Remarquons à ce sujet que le coefficient Q_{10} est ici le même que celui que nous avons trouvé plus haut pour le gonflement de la tête spermatique — autre cas de déplacement d'un liquide à travers le protoplasme.

L'aster spermatique atteint son plein développement en 10 minutes à 18°,5 et en 6 minutes à 26°. Le coefficient de température est donc $Q_{10} = 1,97$.

Nous avons là un premier groupe de coefficients de température du développement de l'aster. Un second groupe est formé par les Q_{10} des phénomènes de déplacements de la figure astérienne.

Nous trouvons pour ces stades :

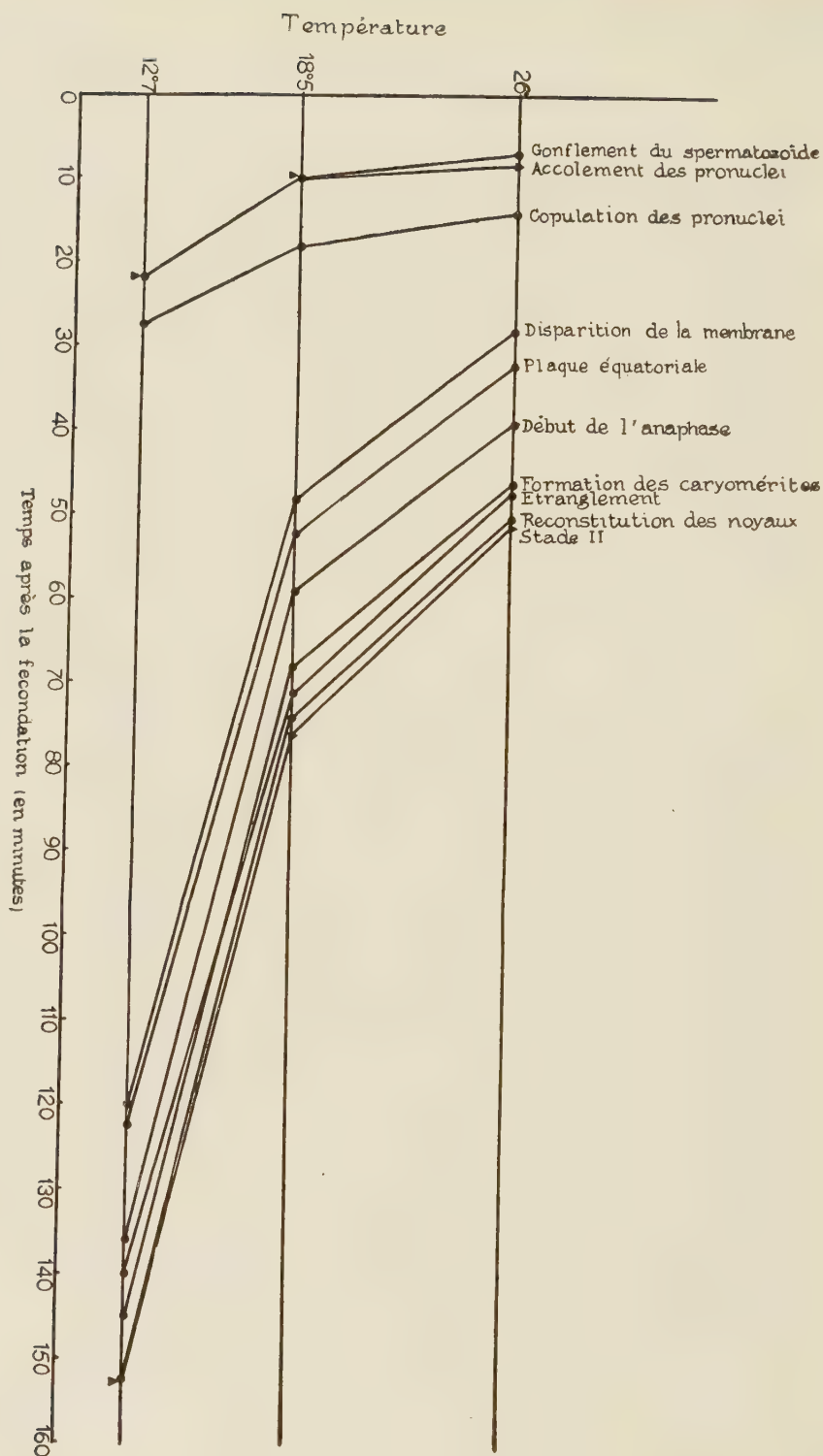


Fig. XVIII. — Durées des différentes phases de la mitose à 12°C, 18°C et 26°C.

Stade	Q_{10}
L'aster entoure les deux pronuclei	1,27
Dédoublement de l'aster	1,16
Rétraction des asters	1,34

Tous ces phénomènes présentent donc des coefficients de température assez bas et se rapprochant des valeurs des variations de la viscosité protoplasmique.

3. — Suite

(Deuxième série d'expériences.)

J'ai fait remarquer plus haut que le développement étant assez rapide dans l'intervalle thermique choisi ($18^{\circ},5$ à 26°), et les fixations espacées de 2 minutes, on pouvait s'attendre à avoir quelques erreurs, surtout dans la détermination des durées des phases à évolution rapide. C'est pourquoi, j'ai entrepris plus tard une deuxième série d'expériences, dont les résultats seront exposés maintenant.

Dans cette deuxième série, j'ai fait des fixations d'œufs qui se développaient à $12^{\circ},7$ C. Les témoins qui se développaient à $18^{\circ},5$ ont montré une durée de la première division exactement égale à celle des œufs de la première série, de sorte que je crois légitime de faire des comparaisons entre les œufs de ces deux séries, pour le calcul des Q_{10} .

A $12^{\circ},7$ le développement des œufs d'Oursin est très fortement ralenti. Les erreurs dues à la fréquence des fixations (toutes les 2,5 minutes, dans cette série) deviennent, par conséquent, beaucoup moins probables. D'autre part, on passe à une zone de coefficients de température bien plus élevés ; on aura donc la possibilité de voir la grandeur et l'allure de leur variation.

Le tableau ci-dessous et la figure XVIII donnent la durée des différents stades pour lesquels les calculs ont été faits. Dans la quatrième colonne, on trouvera les Q_{10} correspondants, pour l'intervalle $18^{\circ},5$ à $12^{\circ},7$.

<i>De la fécondation au stade :</i>	Durée à		Q_{10}
	12°7	18°5	
Gonflement → accolement des pronuclei	22	10	3,89
Copulation des pronuclei	27,5	18	2,07
Disparition de la membrane	120	48	4,86
Plaqué équatoriale	122,5	52	4,38
Anaphase	136	59	4,22
Formation des caryomérîtes	145	68	3,69
Etranglement	140	71	3,22
Reconstitution des noyaux	152,5	74	3,48
St. II	152,5	76	3,32
<i>Du début à la fin du stade :</i>			
Plasmodiérèse	12,5	5	4,85
Plaqué équatoriale	13,5	7	3,10
Copulation → disparition de la membrane	92,5	30	6,97
Copulation → p. équatoriale	95	34	5,88
Formation des caryomérîtes → reconstitution des noyaux	7,5	6	1,47
Copulation → reconstitution des noyaux	125	56	3,99
Disparition de la membrane → reconstitution nucléaire	32,5	26	1,47
Anaphase → reconstitution nucléaire	12,5	9	1,18
Anaphase → caryomérîtes	9	9	1,00

On voit que l'ordre de grandeur des Q_{10} trouvés ici est supérieur à celui de l'intervalle 18°-26°, que nous avons étudié plus haut.

Si l'on dispose les coefficients de température trouvés, comme je l'ai fait ci-dessous, d'après les grandeurs, on s'aperçoit cependant que les deux séries se correspondent assez bien. Les coefficients de température les plus élevés.

ou les moins élevés appartiennent dans les deux cas aux mêmes processus (sauf quelques exceptions, sur lesquelles je reviendrai plus loin):

Stade	12°7-18°5	18°5-26°
Copulation → disparition de la membrane nucléaire	6,97	2,33
Copulation → plaque équatoriale	5,88	2,31
Fécondation → disparition de la membrane nucléaire	4,86	1,87
Plasmodiérèse (durée)	4,85	1,34
Fécondation → p. équatoriale	4,83	1,91
Fécondation → anaphase	4,22	1,73
Copulation → reconst. nucléaire	3,99	1,7
Gonflement du spermatozoïde	3,89	1,60
Accolement des pronuclei	3,89	1,34
Formation des caryomérîtes	3,69	1,68
Fécondation → reconst. nucléaire	3,48	1,68
Fécondation → St. II	3,32	1,7
Fécondation → étranglement	3,22	1,73
Plaque équatoriale (durée)	3,10	1,00
Fécondation → copulation	2,07	1,39
Anaphase → reconst. nucléaire	1,18	1,39
Caryomérîtes → reconstitution	1,47	1,7
Disparition de la membrane → recons. nucléaire	1,47	1,41
Anaphase → form. des caryomérîtes	1,00	1,00

En gros, nous pouvons par conséquent dire, que les processus qui présentaient dans l'intervalle 18°5-26° des Q_{10} faibles, présentent également dans l'intervalle 12°7-18°5 des Q_{10} relativement faibles.

Les durées plus grandes des différentes phases dans l'intervalle 12°7-18°5, nous mettant à l'abri de certaines causes d'erreur, permettent de confirmer la conclusion tirée plus haut, à savoir que les différentes phases de la mitose sont accélérées par la chaleur de manière différente.

Les Q_{10} de chacune des phases varient se'on l'intervalle thermique. Cette variation n'étant pas absolument proportionnelle pour les différentes valeurs de Q_{10} , on arrive à un certain décalage des stades. Ainsi, par exemple, la formation des caryomérîtes qui se fait avant la plasmodiérèse à $18^{\circ},5$ se produit après celle-ci à $12^{\circ},7$. La figure XVIII montre très clairement l'accélération inégale des différents stades.

La pause, phase qui présentait dans l'intervalle $18^{\circ},5-26^{\circ}$ un Q_{10} *relativement fort*, présente dans l'intervalle $12^{\circ},7-18^{\circ},5$ un Q_{10} très élevé et même le plus élevé parmi l'ensemble des phases.

La phase équatoriale, qui présentait dans l'intervalle $18^{\circ},5-26^{\circ}$ un Q_{10} *très faible*, présente maintenant un Q_{10} *relativement faible*.

La « dissolution » de la chromatine présente une accélération nulle dans les deux cas.

Par contre, la « cristallisation » de la chromatine (constitution des chromosomes $\rightarrow$ disparition de la membrane — plaque équatoriale), semble se produire plus rapidement à $12^{\circ},7$ qu'à $18^{\circ},5$ (ici les durées sont très courtes et c'est la raison pour laquelle ce stade ne figure pas sur le tableau).

Enfin, la phase : formation des caryomérîtes —, reconstitution des noyaux présente, semble-t-il, des coefficients de température à marche inverse, c'est-à-dire diminuant avec la température.

Nous avons comparé plus haut le Q_{10} de cette phase au Q_{10} du gonflement de la tête spermatique. Les Q_{10} sont très différents dans cette nouvelle zone de température. La même chose apparaît si l'on veut comparer les Q_{10} de la vitesse de migration de la tête spermatique avec ceux de la plasmodiérèse (les deux sont très élevées, sans toutefois être exactement superposables). Je suis prêt à en tirer la conclusion que les comparaisons ne doivent être faites qu'au voisinage de l'optimum thermique.

4. — L'œuf d'*Ascaris megalocephala*

FAURÉ-FREMIET (1913) a mesuré les durées des trois premières divisions de l'œuf d'*Ascaris megalocephala*. On voit, d'après les chiffres de cet auteur, que le degré d'accélération des mitoses successives n'est pas le même.

FAURÉ-FREMIET a calculé les coefficients de température de la première mitose de segmentation. Ces coefficients varient dans de larges limites selon l'intervalle de température considéré. Il trouve ainsi :

Q_{10}	Dans l'intervalle
6,25	6°-16°
5,7	12°-22°
2,18	22°-32°

et des valeurs négatives pour des températures au delà de l'optimum. L'auteur divise ensuite la courbe des vitesses de division en trois régions principales, correspondant aux intervalles :

0°-18°,
18°-32°,
32°-42°.

La région moyenne est caractérisée par une valeur moyenne du coefficient $Q_{10} = 2,44$; cette valeur est semblable à celle des réactions chimiques.

La région inférieure présente un $Q_{10} = 6,25$. Cette valeur se rapproche de la valeur (5,00) de l'accélération de la vitesse de déplacement des granules cytoplasmiques pendant la centrifugation, pour une élévation de la température de 10° (La vitesse de déplacement des granules cytoplasmiques est inversement proportionnelle à la viscosité du protoplasma).

Enfin, la région supérieure (32°-42°) est caractérisée par un coefficient $Q_{10} = 4,8$.

FAURÉ-FREMIET en conclut que « trois facteurs principaux agissent sur la division de l'œuf d'*Ascaris* :

1° Réactions chimiques exothermiques...

2° Viscosité du cytoplasma ;

3° Action empêchante indéterminée.

La courbe de vitesse de division en fonction de la température peut être considérée comme la résultante des trois courbes caractéristiques de ces phénomènes ».

Nous pouvons ajouter à cette conclusion extrêmement intéressante, que, comme nous l'avons déjà vu pour l'œuf d'Oursin, et comme nous le verrons un peu plus bas pour l'œuf d'*Ascaris*, chacune des valeurs caractéristiques des coefficients de température, tout en nous indiquant le processus prédominant à une température donnée, reste néanmoins elle-même la résultante d'une quantité d'autres valeurs, représentant l'accélération des différentes phases isolées.

* * *

Nous venons de voir qu'en opérant dans certains intervalles de température, on peut obtenir, pour la division de l'œuf d'*Ascaris*, des valeurs énormes des coefficients de température. L'interprétation de ces Q_{10} et, surtout, leur comparaison avec les Q_{10} trouvés pour l'œuf d'Oursin, seraient certainement difficiles dans ces conditions. Pour faciliter l'interprétation des phénomènes normaux, j'ai donc expérimenté dans des limites de température voisines de l'optimum.

Après quelques tâtonnements, j'ai repéré la marge de température dans laquelle le coefficient Q_{10} du processus entier est voisin de celui que j'ai trouvé pour l'ensemble de la première division de l'œuf d'Oursin dans la première série d'expériences (1,7). Cet intervalle est 24°-34°, et c'est à ces températures que j'ai déterminé les durées des phases isolées de la première division de segmentation.

La chronologie des différents stades était établie sur des frottis d'œufs fixés de 5 en 5 minutes.

Le développement des œufs d'*Ascaris* commence dès leur sortie de l'utérus. J'ai donc pris toutes les précautions pour

que la préparation du frottis soit faite le plus rapidement possible ; les lames, avec ces frottis d'œufs, étaient placées ensuite en chambre humide, dans une étuve à température constante, où elles restaient jusqu'au moment de la fixation ; celle-ci était faite au liquide de Carnoy bouillant.

Au moment de la sortie de l'utérus, les deux pronuclei se trouvent, comme on sait, à l'état de repos au centre de l'œuf. Ils ne sortent de cet état d'inertie qu'au moment du contact avec l'oxygène de l'air.

* * *

Les stades caractéristiques, faciles à reconnaître d'une façon sûre, sont les suivants :

1° La formation de chaînettes de grains chromatiques à la surface interne de la membrane nucléaire — premier pas vers la formation du spirème. (Le moment précis de la constitution complète du spirème est, au contraire, très difficile à repérer ; j'ai donc laissé de côté ce stade.)

2° La disparition de la membrane nucléaire ;

3° La constitution de la plaque équatoriale ;

4° Le début de l'anaphase ;

5° La fin de l'anaphase ;

6° Le cloisonnement complet des deux premiers blastomères.

7° La reconstitution des noyaux granuleux après la division.

La durée de l'anaphase est difficile à établir avec exactitude, étant donnée qu'elle dure peu, et surtout que son synchronisme est beaucoup moins parfait que celui des autres stades.

* * *

L'œuf d'*Ascaris*, sorti de l'utérus et soumis à la température de 24° atteint le stade de deux blastomères en 5 h. 55 min., soit 355 minutes. A 34°, ce même stade est atteint au bout de 3 h. 15 min., soit 195 minutes. L'élévation

de température étant exactement de 10° le coefficient de température :

$$Q_{10} = \frac{355}{195} = 1,84$$

Si, au lieu de compter le temps qui s'écoule entre la sortie des œufs de l'utérus et la plasmodiérèse, on considère l'intervalle : Sortie de l'utérus — reconstitution des noyaux, on trouve respectivement pour les deux températures, 24° et 34° les durées 365 minutes et 200 minutes, et par conséquent un coefficient :

$$Q_{10} = \frac{365}{200} = 1,82$$

valeur extrêmement rapprochée de la première.

De même, on trouve pour trois autres stades des coefficients Q_{10} de la même valeur, si l'on fait abstraction de la seconde décimale qui dans les conditions de l'expérience peut évidemment être négligée :

De la sortie des œufs au stade	Durée à		Q_{10}
	24°	34°	
Début de l'anaphase	325 m.	175 m.	1,85
Fin de l'anaphase	345 m.	185 m.	1,86
Etrangement protoplasmique	345 m.	185 m.	1,86

Au contraire, pour l'installation de trois autres stades (qui sont chronologiquement les premiers), on trouve des valeurs plus fortes.

De la sortie des œufs au stade	Durée à		Q_{10}
	24°	34°	
Formation des chaînettes	150 m.	55 m.	2,72
Disparition de la membrane nucléaire..	220 m.	100 m.	2,20
Plaque équatoriale	270 m.	130 m.	2,07

Comme dans le cas de l'œuf d'Oursin, l'examen des coefficients de température des durées absolues des stades isolés va nous permettre de serrer de plus près la signification des différences entre les valeurs trouvées.

Les trois derniers coefficients Q_{10} cités dans l'ordre chronologique forment une série décroissante: $I > II > III$. Il n'est donc pas étonnant de trouver, en calculant les coefficients Q_{10} des durées absolues de ces stades les trois valeurs suivantes :

Stade	Durée à		Q_{10}
	24°	34°	
De la sortie des œufs à la formation des chaînettes	150 m.	55 m.	2,72
Formation des chaînettes —> disparition de la membrane	70 m.	45 m.	1,55
Disparition de la membrane —> plaque équatoriale	50 m.	30 m.	1,66

le premier étant beaucoup plus fort que les deux suivants. Par conséquent, ici, comme chez l'œuf d'Oursin, nous

trouvons un coefficient de température élevé et comparable à ceux des réactions chimiques, pour le stade précédent immédiatement la mitose. Nous savons déjà que la présence d'oxygène est la condition indispensable à la réalisation de ce stade et, d'autre part, que l'achèvement de la mitose peut se produire dans une atmosphère privée d'oxygène.

La durée totale de la plaque équatoriale est de 55 minutes à 24° et de 45 minutes à 34°. Le coefficient de température est donc :

$$Q_{10} = 1,22$$

ce qui représente une accélération assez faible.

La durée de l'anaphase (voir remarques faites plus haut) est ≥ 20 minutes à 24° et ≥ 10 minutes à 34° C. L'accélération correspond donc à un Q_{10} d'environ 2,00, valeur relativement très forte. Mais le Q_{10} du transport par centrifugation des granules cytoplasmiques, calculé d'après la courbe de FAURÉ-FREMIET, serait = 4,7 entre 24° et 34°.

Le Q_{10} de l'anaphase est donc sensiblement plus faible et ne correspond pas aux changements de la viscosité protoplasmique calculés d'après les essais de centrifugation. Mais il ne faut pas oublier les remarques formulées plus haut au sujet du coefficient Q_{10} de l'anaphase chez l'œuf d'Oursin.

Enfin, la reconstitution des noyaux se fait 20 minutes après la fin de l'anaphase à 24° et 15 minutes après celle-ci à 34°. Ceci correspond à un $Q_{10} = 1,33$.

5. — *Comparaison des résultats précédents*

Revenons d'abord sur un travail cité plus haut.

En 1924, PETER a fait, d'après les chiffres de JOLLY, le calcul des coefficients de température de plusieurs phases de la mitose dans les hématies du Triton. Il trouve ainsi :

Pour le Stade	Q_{10}	Dans l'intervalle
Diaster	1,4	10°-20°
Etranglement.....	2,2	»
Début de la transformation de l'étoile-fille...	2,0	»
Apparition du réseau depuis la séparation...	2,4	»
Peloton serre	2,6	20°-25°
Peloton lache	3,0	18°-25°
Reconstitution des noyaux-filles	1,6	20°-25°

Il écrit ensuite : « Die Unterschiede in der Beschleunigung der einzelnen Stadien sind gering, wenn man die bedeutenden Fehlerquellen berücksichtigt; man wird in der Annahme nicht fehl gehen, dass sämtliche Phasen in gleicher Weise durch die Temperatur beeinflusst werden. Dies ist an und für sich ja auch ein nahe liegender Gedanke da sie nur Teile des Gesamtvorgangs darstellen ».

Négligeons les causes d'erreur.

PETER trouve petites les différences d'accélération des divers stades; les Q_{10} varient pourtant de 1,4 à 2,4 dans l'intervalle 20°-25° C. Les quelques chiffres cités au commencement de ce travail montrent que les valeurs des coefficients de température des processus chimiques et physiques très différents ne varient, à peu près, que dans les mêmes limites. Les différences trouvées par PETER doivent, par conséquent, être considérées, au contraire, comme extrêmement importantes.

D'autre part, l'affirmation de PETER que l'accélération égale de tous les stades est naturelle, « car ils ne sont que des parties d'un processus complexe », ne semble pas du tout évidente.

Enfin, on ne peut nier l'existence de causes d'erreurs; elles sont même assez probables dans le cas de l'œuf d'Oursin, en particulier aux hautes températures, où la durée de la mitose est relativement courte. Mais je pense, que leur

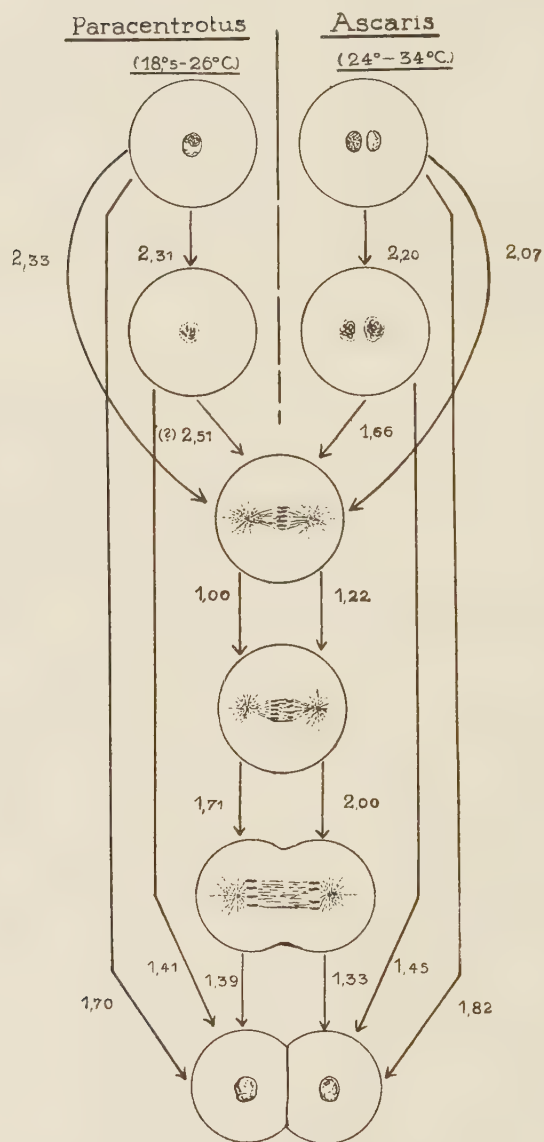


Fig. XIX. — Coefficients de température des différentes phases de la mitose des œufs d'Oursin et de l'*Ascaris*.

importance est de beaucoup diminuée, si l'on compare entre eux les résultats obtenus à la fois sur des cellules aussi différentes que les œufs d'Oursin et d'*Ascaris*.

Nous allons donc passer en revue parallèlement les coefficients de température trouvés pour les différentes phases de la mitose des œufs d'Oursin (première série et *Ascaris*). Pour nos comparaisons, nous devrons choisir les processus exactement superposables, et ceci nous limite à la comparaison des stades de l'évolution nucléaire ; d'autre part, nous ne comparerons que les coefficients Q_{10} trouvés dans notre première série d'expériences sur l'œuf d'Oursin à ceux de l'*Ascaris*, car c'est dans cet intervalle thermique que les valeurs numériques se rapprochent de celles trouvées pour l'*Ascaris* (ce qui s'explique sans doute par le fait que dans ces deux cas on a opéré près de l'optimum thermique).

Comme point de départ, nous prendrons :

- a) La copulation des pronuclei pour l'œuf d'Oursin ;
- b) Le moment de la sortie des œufs de l'utérus (« *équilibre de copulation* », de FAURÉ-FREMIET), pour l'œuf d'*Ascaris*, — stades comparables, sinon superposables. Dans ces conditions, le schéma ci-contre (fig. XIX) permet de formuler les constatations suivantes :

1° La période comprise entre le point de départ (« *équilibre de copulation* ») et la disparition de la membrane nucléaire est caractérisée par un coefficient de température élevé, aussi bien dans l'œuf d'Oursin que dans celui de l'*Ascaris* ; on trouve, en effet :

$$Q_{10} = 2,31 \text{ pour l'œuf d'Oursin et}$$

$$Q_{10} = 2,20 \text{ pour l'œuf d'Ascaris.}$$

2° La période suivante :

Disparition de la membrane nucléaire → plaque équatoriale, présente un $Q_{10} = 1,66$ dans l'œuf d'*Ascaris* et un $Q_{10} = 2,51$ (?) ⁽¹⁾, pour l'œuf d'Oursin.

(1) Le point d'interrogation indique que la durée courte de ce stade dans l'œuf d'Oursin, ne permet pas de demander une grande précision à cette détermination.

3° L'ensemble de la prophase (copulation — plaque équatoriale), présente dans les deux cas des coefficients de température élevés et égaux à

2,33 pour l'œuf d'Oursin et
2,07 pour l'œuf d'*Ascaris*.

4° La plaque équatoriale est caractérisée dans les deux cas par des coefficients de température extrêmement faibles :

$Q_{10} = 1,00$ pour l'œuf d'Oursin (accélération nulle) et
 $Q_{10} = 1,22$ pour l'œuf d'*Ascaris* (accélération faible).

5° L'anaphase présente les coefficients de température suivants :

1,71 pour l'œuf d'Oursin et
2,00 pour l'œuf d'*Ascaris*.

(Voir les remarques faites plus haut en ce qui concerne l'interprétation des coefficients de température de ce stade.)

6° La reconstitution des noyaux après la mitose présente encore des coefficients Q_{10} extrêmement rapprochés, sinon identiques dans les deux cas. On trouve, en effet :

$Q_{10} = 1,39$ pour l'œuf d'Oursin et
 $Q_{10} = 1,33$ pour l'œuf d'*Ascaris*.

Le parallélisme entre les coefficients de température des différents stades de la mitose des œufs d'Oursin et d'*Ascaris* est à peu près parfait. Il n'est donc point étonnant de trouver pour l'ensemble du processus des coefficients de température extrêmement voisins ; ils sont :

$Q_{10} = 1,70$ pour l'œuf d'Oursin et
 $Q_{10} = 1,82$ pour l'œuf d'*Ascaris*,

si l'on considère la période : copulation → reconstitution des noyaux, et

$Q_{10} = 1,41$ pour l'œuf d'Oursin et
 $Q_{10} = 1,45$ pour l'œuf d'*Ascaris*,

si on considère la durée : disparition de la membrane $\rightarrow$ reconstitution des noyaux. La différence entre le premier et le second couple de coefficients de température correspond, comme on l'a vu plus haut, à l'existence, dans l'intervalle : copulation $\rightarrow$ disparition de la membrane nucléaire d'un processus à coefficient Q_{10} élevé.

* * *

Il semble très peu probable que le parallélisme observé entre les deux espèces d'œufs soit dû à un hasard. L'accélération inégale des différents stades de la mitose trouvée par PETER-JOLLY n'est certainement pas due à une erreur d'observation. Cette opinion a été confirmée depuis la publication de mes premiers résultats par BUCCIANTE (1926-1927) qui a étudié la vitesse de la mitose de fibroblastes dans des cultures *in vitro* : le tableau ci-dessous reproduit les résultats de BUCCIANTE en ce qui concerne les Q_{10} de l'anaphase et de la télophase :

Intervalle	Télophase	Anaphase
31-21	12.20	5.45
32-22	9.06	5.43
33-23	8.44	5.09
34-24	5.80	4.66
35-25	4.50	4.15
36-26	4.69	3.60
37-27	3.90	3.03
38-28	3.46	2.79
39-29	2.83	2.71
40-30	2.75	2.55
41-31	2.84	2.50
42-32	2.54	2.27
43-33	1.86	1.78
44-34	1.81	1.73
45-35	1.70	1.52

On voit que l'accélération des deux phases n'est semblable que dans une zone très étroite de températures ; au-dessous

de cette zone les coefficients de température de la télophase sont beaucoup plus forts que ceux de l'anaphase.

RÉSUMÉ

1° Les différentes phases du cycle cellulaire sont caractérisées par des coefficients de température bien différents.

2° Le coefficient de température de la mitose prise en entier est une moyenne de valeurs différentes appartenant aux différents processus de nature très diverse qui constituent le mécanisme complexe de la mitose, et n'a pour cette raison aucune signification.

3° Pour plusieurs raisons indiquées dans le paragraphe B les valeurs absolues des coefficients de température n'ont pas de signification ; par contre l'étude de leurs valeurs relatives et les comparaisons entre les coefficients de température des divers processus peuvent souvent être instructives et permettent quelquefois, l'analyse du phénomène.

4° Les comparaisons entre les Q_{10} semblent devoir être faites au voisinage de l'optimum thermique.

5° Les coefficients de température des différentes phases de la mitose présentent non seulement des valeurs absolues différentes, mais encore une variation différente le long de l'échelle thermique.

6° L'accélération des différentes phases de la mitose de l'œuf d'*Ascaris* est analogue à celle qu'on observe chez l'Oursin.

7° Au voisinage de l'optimum thermique les Q_{10} de la majorité des phases de la mitose présentent des valeurs inférieures à celles qu'on indique généralement pour les réactions chimiques.

8° Parmi les différentes phases de la mitose, la « pause », période pendant laquelle une oxydation semble s'opérer, présente le Q_{10} le plus élevé et se rapprochant le plus des Q_{10} des réactions chimiques.

9° Les changements d'état de la chromatine nucléaire ne

semblent subir, par l'élévation de la température, qu'une accélération très faible (nulle dans quelques cas).

10° Les processus isolés qui constituent l'ensemble de la mitose semblent jouir d'une assez grande autonomie les uns par rapport aux autres. De leur accélération inégale par la température peuvent résulter quelques-unes des anomalies qu'on observe au voisinage des températures critiques.

CHAPITRE IV

Les échanges respiratoires de l'œuf d'Oursin au cours de son développement à différentes températures

Dans le chapitre précédent nous avons vu que les différents mécanismes qui constituent le processus complexe de la segmentation présentent des coefficients de température différents, c'est-à-dire qu'ils sont accélérés de manière différente par l'élévation de la température, de sorte qu'il peut en résulter des décalages importants entre l'évolution de ces différents mécanismes. Sans doute ces décalages causent une partie des anomalies que l'on observe au voisinage des températures critiques.

Vers les températures élevées les valeurs des Q_{10} sont, en général, comme nous l'avons vu, inférieures à celles qu'on indique habituellement pour les réactions chimiques. Il faut mettre à part un stade, « la pause », qui présente un Q_{10} se rapprochant de ceux des réactions chimiques ; et nous savons en effet qu'à ce stade l'œuf a besoin d'oxygène. Le Q_{10} relativement élevé qu'on observe à ce moment est donc, selon toute vraisemblance, le témoin du processus d'oxydation qui a lieu pendant la « pause ».

L'œuf fécondé est le siège d'oxydations intenses. Si les oxydations respiratoires présentent des Q_{10} voisins de celui que j'ai établi pour la pause, c'est-à-dire des Q_{10} très supé-

rieures à ceux de la majorité des phénomènes de la mitose, il doit en résulter un certain décalage entre l'évolution morphologique et physiologique de l'œuf.

L'étude de TERROINE et WURMSER (1922) sur l'énergie de croissance de l'*Aspergillus niger* à différentes températures a amené ces auteurs à formuler la proposition suivante : l'énergie utilisable des réactions impliquées dans les phénomènes biologiques ne varie pas sensiblement dans l'intervalle de température compatible avec la vie.

BARTHELEMY et BONNET (1924, 1926) ont réalisé une étude analogue sur l'œuf de *Rana fusca* en développement. Ils ont brûlé à la bombe calorimétrique d'une part des œufs, d'autre part des larves de *Rana fusca* développées à 8°, 10°, 14°, et 21° et ont conclu de leur travail que l'élévation de la température ne modifie en rien l'utilisation de l'énergie au cours du développement. Des dosages chimiques portant sur l'azote total et sur les substances grasses des œufs et des larves sont venus confirmer leur conclusion.

Dans des expériences plus anciennes KROGH (1914) a montré que l'élévation de la température accélère de manière absolument égale la durée de la nymphose et le dégagement de CO² par les larves de *Tenebrio molitor*.

Certains faits m'ont cependant incité à reprendre des expériences analogues. Ces faits sont les suivants :

J. LÖEB et WASTENEYS (1911) ont étudié la vitesse de segmentation et de l'absorption d'oxygène par les œufs d'*Arbacia* à différentes températures. La comparaison des valeurs trouvées des Q₁₀ du développement et des oxydations respiratoires semble à première vue permettre de prévoir que la consommation totale d'oxygène pendant le développement de l'œuf jusqu'à un même stade morphologique, mais se produisant à des températures différentes, doit être bien différente selon la température ; les valeurs des Q₁₀ des deux phénomènes (segmentation et oxydations) sont en effet bien différentes :

Intervalle thermique	Q_{10} de la segmentation	Q_{10} des oxydations
7°-17°	7,3	2,0
10°-20°	3,9	2,17
13°-23°	3,3	2,45
15°-25°	2,6	2,24
20°-30°	1,7	1,96

Mais l'examen de la méthode employée par LÖB et WASTENEYS montre qu'en réalité les chiffres obtenus par ces auteurs ne permettent aucune conclusion précise à ce sujet. LÖB et WASTENEYS déterminaient en effet le Q_{10} de la respiration par la méthode de WINKLER et mesuraient dans chaque expérience la respiration d'un même lot d'œufs placé successivement à différentes températures. Les œufs respiraient à chaque température pendant 1 h. 30 m. et les mêmes œufs étaient utilisés successivement trois fois, donc pendant au moins 4 h. 30. Les auteurs mesuraient donc la quantité d'oxygène absorbé par les œufs dans une unité de temps prise au hasard, indépendamment du stade évolutif des œufs. Or, d'après WARBURG (1915) et les auteurs eux-mêmes, l'intensité respiratoire des œufs augmente régulièrement au cours du développement. Dans ces conditions les valeurs des Q_{10} de l'absorption de l'oxygène trouvées par LÖB et WASTENEYS n'ont évidemment aucune valeur comparative réelle et ne peuvent dans aucun cas servir à l'estimation de la dépense énergétique du développement. La détermination des Q_{10} perd du même fait beaucoup de sa précision. LÖB et WASTENEYS ont d'ailleurs prévu cette objection et disent simplement que, pour les raisons que je viens d'indiquer, les valeurs des Q_{10} qu'ils citent doivent être légèrement erronées par excès. Seulement, comme nous allons le voir, l'intensité respiratoire varie beaucoup plus que ne l'indiquent les auteurs ⁽¹⁾ et on peut s'attendre à ce

(¹) Voici à titre d'exemple la variation de l'intensité respiratoire, à 23°, d'après une expérience de LÖB et WASTENEYS :

1 ^{re} heure	0,94
2 ^e heure	0,8
3 ^e heure	0,87
4 ^e heure	0,91
5 ^e heure	1,05

que les valeurs des Q_{10} trouvées par LÆB et WASTENEYS soient beaucoup plus erronées qu'ils ne le supposent.

J'ajoute enfin que les Q_{10} du développement auxquels LÆB et WASTENEYS comparent les Q_{10} des oxydations, sont déterminés d'après les durées de l'évolution entre la fécondation et le stade II, soit entre le stade II et le stade IV. Or, comme nous l'avons déjà vu plus haut, l'évolution, le long de l'échelle thermique, des Q_{10} des premiers stades du développement et des stades ultérieurs est entièrement différente. Ceci constitue une raison de plus qui nous interdit de tirer des seuls chiffres de LÆB et WASTENEYS aucune conclusion au sujet du rendement énergétique du développement.

Dans le travail de FAURÉ-FREMIET sur l'œuf de *Sabellaria alveolata* (1924) on trouve également une indication au sujet qui nous intéresse. FAURÉ-FREMIET donne deux courbes, dont l'une représente les vitesses de segmentation en fonction de la température, l'autre l'absorption d'oxygène par 100 grammes d'œuf en 100 minutes à différentes températures. Un calcul simple montre que l'absorption totale d'oxygène pendant le développement à différentes températures et jusqu'à un même stade morphologique doit bien varier avec la température. Seulement ici encore on doit se demander si un tel calcul est légitime étant donné les variations possibles de l'intensité respiratoire. Seule l'expérience directe semble pouvoir nous renseigner sur le rendement énergétique du développement.

La supériorité de la calorimétrie pour la solution d'un tel problème est évidente ; je n'avais cependant pas à ma disposition l'outillage nécessaire et j'ai dû me contenter d'une première approximation que pouvait m'apporter l'étude des échanges respiratoires durant le développement de l'œuf à différentes températures et jusqu'à un stade morphologique défini.

1. — MÉTHODE

Pour la détermination des échanges respiratoires des œufs je me suis servi de la technique manométrique de Warburg,

dont on trouvera la description dans l'article de KREBS (1928). Je ne reviendrai donc pas ici sur les détails de la méthode et me bornerai à rappeler que ce que l'on mesure par les dénivellations du liquide manométrique sont des variations de la pression dans des flacons, à volume constant. Un calcul facile permet de transformer les pressions observées en volumes de gaz apparu ou disparu dans les flacons.

a) Détermination de l'oxygène absorbé.—Il est facile de suivre l'absorption d'oxygène par les œufs en plaçant dans un diverticule du flacon de la soude qui absorbe le CO_2 apparu ; les variations de la hauteur du liquide manométrique indiquent alors, si l'on tient compte des variations de pression d'un flacon témoin, dit thermo-baromètre, les quantités d'oxygène disparu.

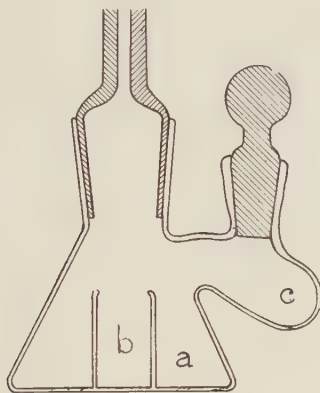


Fig. XX. — Flacon du manomètre de WARBURG.

Dans mes expériences j'utilisais des flacons de la forme indiquée figure XX et d'un volume total de ± 19 cc. Je plaçais toujours 2 cc. d'une émulsion d'œufs dans le compartiment *a*, et je répartissais 0,5 cc. soude dans les compartiments *b* et *c*. L'expérience a montré que ces quantités de soude à 33% étaient suffisantes pour l'absorption totale et rapide du CO_2 apparu dans l'atmosphère gazeuse. Le poids

d'œufs était de 30 à 50 mgr. par cc. J'ajoute qu'à la fin de chaque expérience, je mesurais le pH de l'eau baignant les œufs.

La répartition des œufs dans les manomètres se produisait selon la méthode indiquée plus haut (p. 8).

J'aspirais rapidement dans des pipettes graduées de 2 cc. l'émulsion d'œufs, tout le temps mélangée, pour homogénéiser en empêchant la sédimentation.

L'observation d'un flacon témoin montre que l'équilibre de température est atteint dans un manomètre après environ 15 à 20 minutes de séjour dans le bain à température constante. Je ne commençais donc jamais l'expérience qu'après 20 minutes au moins. Les thermostats étaient réglés à 0°, 1-0°, 2 près.

b) Précision des mesures.—Comme l'a mentionné WARBURG, l'intensité respiratoire des œufs d'Oursin varie assez sérieusement d'un échantillon à l'autre. Les quantités totales d'oxygène absorbé durant le développement rapportées au gramme humide d'œufs, sont les suivantes. Je n'indique ici, pour des raisons qui apparaîtront plus tard, que les résultats d'expériences réalisées entre 10° et 22°5.

Températures	mm ³ de O ² consommé par 1 gr. d'œufs
10°1	1137
12°1	1052
14°0	1244
17°2	1044
17°4	1084
17°5	1230
17°5	1139
18°0	939
18°1	1197
18°5	1421
20°3	1178
22°4	1201
22°5	1120

Il apparaît que pour se rendre compte des variations de la consommation d'oxygène en fonction de la température il est impossible de se fonder sur la comparaison des chiffres absolus à partir d'œufs de lots différents et qu'il devient au contraire nécessaire de comparer la respiration d'un même lot d'œufs à différentes températures. Aussi est-ce la méthode que j'ai adoptée dans mes expériences.

Il faut ajouter à cela que les valeurs qu'on obtient en plaçant des manomètres contenant les échantillons d'un même lot d'œufs dans des conditions identiques, ne varient d'ordinaire pas plus que de 5% (et souvent de moins). Ceci autorise à prendre la valeur moyenne comme chiffre définitif d'une expérience dans laquelle plusieurs manomètres ont servi à la détermination de la consommation d'oxygène dans des conditions identiques.

Il était nécessaire dans les expériences dont il sera question plus bas, de pouvoir suivre l'évolution morphologique des œufs en expérience. Le procédé que j'ai adopté dans ce but et qui s'est montré excellent a été le suivant. Dans le thermostat se trouvait suspendu un barboteur contenant 250 cc. d'eau de mer et relié à une trompe à eau. Au même moment où je plaçais les manomètres contenant les œufs dans le thermostat, je versais dans le barboteur 2 à 3 cc. d'une émulsion épaisse d'œufs du même lot. Etant donné la grande dilution, l'eau du barboteur reprenait en peu de minutes la température du bain. Le passage d'air, assuré par la trompe à eau, empêchait la sédimentation des œufs. Il était facile de prélever de temps en temps quelques gouttes d'eau dans le barboteur et d'examiner les œufs, dont le développement était absolument synchrone de celui des œufs placés dans les récipients manométriques.

c) *Choix des stades.* — Le choix du moment du début des expériences est facile. On pouvait par exemple employer l'œuf dès la fécondation (en réalisant celle-ci dans les manomètres même) ou bien partir du stade II, stade qui est parfaitement synchrone (à 1 minute près) dans tous les œufs d'un même élevage.

Dans les premières expériences, j'ai adopté le second procédé, car pour des expériences de longue durée il était important de se débarrasser de l'excès de sperme par des lavages. Les œufs fécondés et bien lavés étaient donc introduits dans les manomètres un quart d'heure après la fécondation et les manomètres étaient fermés (début de l'expérience) au moment où les œufs accomplissaient leur première division.

Il était d'autre part important de trouver un stade du développement facile à déterminer et pouvant servir de fin d'expérience. Un tel stade est donné par l'éclosion de la larve. Lorsque l'élevage des œufs se fait dans de bonnes conditions (constance de température, absence de sédimentation) l'éclosion des premières larves est rapidement suivie de l'éclosion de toutes les larves. Le moment des premières éclosions, facile à repérer, pouvait donc parfaitement servir de fin d'expérience, d'autant plus que ce point de repère est à la fois morphologique et physiologique : l'éclosion de la larve n'est en effet pas autre chose que la mise en train de *l'activité d'une structure morphologiquement différenciée*.

2. — DÉTERMINATION DE LA CONSOMMATION TOTALE D'OXYGÈNE PENDANT LE DÉVELOPPEMENT DU STADE II A L'ÉCLOSION DE LA LARVE.

Les expériences en vue de déterminer la consommation totale d'oxygène durant le développement du stade II à l'éclosion de la larve ont été réalisées dans les conditions suivantes : dans chaque expérience je répartissais les œufs dans une série de manomètres, dont une moitié étaient placés à une température, les autres à une autre. Au même moment je plaçais un volume connu d'œufs dans un tube à centrifuger pour la détermination du poids (dans la majorité des expériences). Les œufs fécondés (2 cc.) et bien lavés se trouvaient dans le grand compartiment du flacon et la soude (0,5 cc.) était répartie (0,2 + 0,3 cc.) dans le compartiment central et dans le diverticule. L'équilibre de tempé-

rature était établi depuis quelque temps lorsque les œufs témoins (barboteur) commençaient à se diviser ; à ce moment je mettais les manomètres à zéro et je fermais les robinets. Les lectures successives étaient faites à intervalles plus ou moins réguliers ; la lecture finale, au moment où les premières larves commençaient à nager dans le barboteur. Cette lecture terminée (c'est-à-dire 30 à 60 secondes plus tard), j'ouvrais un des manomètres et je vérifiais si dans les flacons aussi les larves nageaient ; le développement avait été, à quelques rares exceptions près, synchrone dans le barboteur et les manomètres.

L'intensité respiratoire variant assez fortement d'un lot d'œufs à l'autre, j'ai cherché surtout à obtenir des chiffres relatifs. Dans chaque expérience je travaillais à deux températures à la fois. Dans une première série d'expériences l'un des thermostats était réglé aux environs de 22°5, l'autre à des températures inférieures. J'estimais en % la variation de la quantité totale d'oxygène absorbé durant le développement, la consommation à 22° étant prise pour unité. Les valeurs obtenues ont été les suivantes :

t	t_2	Oxygène t_1	Oxygène t_2	Variation %
22,4	18,2	179	162,0	— 5,1%
22,8	17,5	80,0	83,1	+ 4,1
22,4	14,1	99,7	103,3	+ 3,3
22,4	12,1	72,5	68,4	— 5,5

Les chiffres obtenus sont comme on le voit assez homogènes et les écarts dans la consommation d'oxygène aux différentes températures se tiennent juste dans les limites des erreurs d'expériences. Et comme les variations se produisent dans les 2 sens on peut en conclure que, entre 12° et 22,8°, la consommation totale ne varie pas.

Dans une autre expérience j'ai essayé de déterminer la consommation d'oxygène à une température encore plus basse. L'un des thermostats était réglé à 10°15, l'autre à 20°3.

Le résultat de cette expérience a été le suivant :

Oxygène consommé à 10,15°	Oxygène consommé à 20,3°	Variation %
73,9	76,6	— 3,4%

Je crois pouvoir conclure de ces expériences que la consommation totale d'oxygène ne varie pas d'une manière mesurable entre 10° et 22°8.

En est-il de même aux températures plus élevées ?

Nous avons vu plus haut qu'à des températures supérieures à 23° les Q_{10} du développement atteignaient des valeurs très petites et plus petites que celles qu'on attribue généralement aux réactions chimiques. Si les oxydations mises en train au moment de la fécondation jouissent encore d'un certain degré d'indépendance par rapport aux phénomènes morphologiques, c'est probablement dans ce domaine de température qu'on pourra en trouver la démonstration.

Dans quatre nouvelles expériences je réglais l'un des thermostats à 17°-18° et l'autre à des températures supérieures à 23°. La variation de la consommation d'oxygène a été calculée en %, en prenant la consommation à 17°-18° pour unité. Les chiffres ci-dessous donnent les résultats de ces expériences.

t	t_2	Oxygène t_1	Oxygène t_2	Ecart %
18	23,55	124,9	145,2	+ 16%
17,35	24,3	148,8	162,8	+ 9,2%
17,5	24,3	143,9	167,0	+ 15,8%
17,2	25,1	70,3	85,9	+ 21%

L'écart observé dans ces expériences n'est plus attribuable aux erreurs d'expérience, d'autant plus que la variation se produit toujours en faveur de la température la plus élevée.

La figure XXI systématise les résultats de ces neuf expériences. Une droite relie les deux points indiquant l'écart observé entre les deux valeurs obtenues dans chaque expérience.

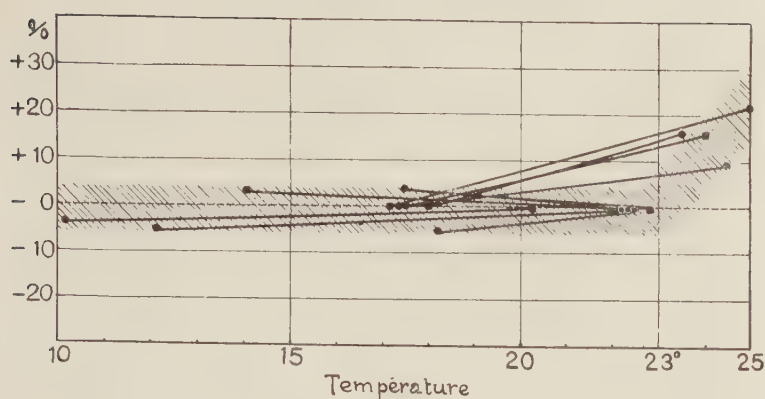


Fig. XXI. — O₂ consommé par les œufs d'Oursin pendant le développement (à différentes températures) du stade II à la larve nageante. Les droites réunissent 2 points obtenus dans une même expérience. La zone hachurée donne l'évolution de la quantité d'O₂ absorbé, compte tenu des erreurs d'expérience.

Tenant compte des résultats fournis par la première série d'expériences qui indiquent qu'entre 10° et 23° il n'y a pas d'écart appréciable dans la consommation d'oxygène, il faut admettre que l'écart trouvé dans la seconde se produit non pas entre 17°-18° et 23°-25°, mais à partir de 23° seulement. La courbe hachurée représente alors la marche des phénomènes.

* * *

Dans ces expériences j'ai cependant négligé, pour des raisons que j'ai indiquées plus haut, les phénomènes initiaux du développement, c'est-à-dire la phase comprise entre la fécondation et le stade II. Or, les résultats de LÆB et WASTENEYS ont été obtenus sur les phases plus précoces du développement que celles que j'ai étudiées. L'examen de la consommation d'oxygène pendant cette première période du développement, s'imposait donc et d'autant plus que les chiffres de LÆB et WASTENEYS, aussi bien que ceux de FAURÉ-FREMIET, faisaient prévoir plutôt (et indépendamment des objections formulées) des écarts aux basses et non pas aux hautes températures.

3. — DÉTERMINATION DE LA CONSOMMATION D'OXYGÈNE PENDANT LE DÉVELOPPEMENT DE L'ŒUF JUSQU'AU STADE II

Les expériences de détermination de la consommation totale de l'oxygène pendant le développement de l'œuf depuis la fécondation jusqu'au stade II étaient réalisées de la manière suivante. Les œufs vierges bien lavés étaient répartis dans les grands compartiments des manomètres (1,5 cc. d'émulsion d'œufs). La soude (0,5) était versée dans le compartiment central et 0,5 cc. de sperme frais dilué était placé dans le diverticule latéral. Les manomètres étaient placés dans les thermostats. Lorsque l'équilibre de température était atteint je mettais les manomètres au 0, puis je fermais les robinets et je renversais rapidement les manomètres de façon à faire couler le sperme sur les œufs. Bien entendu, je fécondais en même temps le lot d'œufs placé au préalable dans le barboteur témoin.

L'expérience a montré que, dans ce cas comme dans celui du développement jusqu'à la larve nageante, l'évolution des œufs placés dans les manomètres et dans le barboteur était tout à fait synchrone. Je me suis assuré d'autre part que, conformément aux indications de WARBURG, la respiration due à l'excès de sperme était négligeable.

Comme dans la majorité des expériences précitées je ne tenais pas compte ici de la quantité absolue des œufs. Dans chaque expérience la moitié des manomètres était placée dans un thermostat dont la température était de 22°45, l'autre moitié dans le second thermostat dont je faisais varier la température à chaque expérience (dans une seule expérience la température du premier thermostat était de 18°5). A partir des moyennes de consommation aux deux températures de chaque expérience, je calculais en % l'augmentation ou la diminution de la consommation totale, la consommation à 22°45 étant prise pour 100. Le tableau ci-dessous donne les résultats de ces expériences : dans la deuxième colonne sont indiquées, pour chaque expérience,

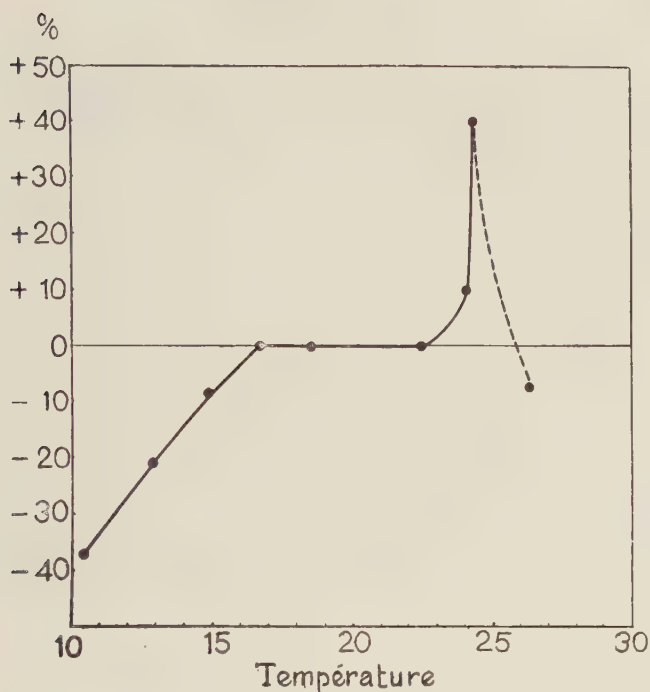


Fig. XXII. — Variation de la consommation d'O₂ pendant le développement des œufs de la fécondation au stade II.

la consommation totale moyenne à 22°45, dans la quatrième la consommation moyenne à une autre température et dans, la cinquième la variation en % (voir aussi la courbe de la fig. XXII).

Exp.	O ₂ Consommation à 22°45	Température	Consommation d'O ₂	Variation%
19	20,7	10°4	13,1	— 36,8
20	16,3	12°9	12,9	— 20,8
21	20,3	14°9	18,6	— 8,38
32	19,7	18°5	19,5	0
22	13,8	16°75	13,75	0
27	11,2	24°15	12,3	+ 9,9
25	13,4	24°3	18,8	+ 40,3
30	26,6	26°3	24,65	— 7,34

Il ressort de ces chiffres que la consommation totale d'oxygène pendant la période du développement de la fécondation jusqu'au stade II ne varie point entre 16°3 et 22°45. Elle baisse ensuite très sérieusement lorsque la température baisse, et monte lorsque la température augmente (au delà de 26° elle semble baisser de nouveau ; mais ici les développements ne sont plus tout à fait normaux) ⁽¹⁾.

Les variations de la consommation d'oxygène pendant les stades initiaux du développement pouvant être si fortes on doit se demander comment il se fait qu'au bout d'un développement plus poussé on n'en retrouve pas les traces ? L'hypothèse la plus simple consiste à supposer que les variations observées ne se produisent qu'au début de développement et que, l'intensité respiratoire des œufs augmentant au cours du développement, les écarts produits au début du développement ne peuvent plus être retrouvés à la fin.

4. — LES VARIATIONS DE L'INTENSITÉ RESPIRATOIRE AU COURS DU DÉVELOPPEMENT.

J'ai déjà mentionné plus haut que WARBURG avait mis en évidence l'accroissement de l'intensité respiratoire des œufs au cours du développement. Ce fait a été par la suite retrouvé par SHEARER, GRAY, RAPKINE.

Pour me rendre compte exactement de l'importance de l'absorption d'oxygène durant la première division par rapport à la consommation totale (jusqu'à l'éclosion), j'ai fait plusieurs expériences dans lesquelles je laissais développer des œufs fécondés dans les manomètres jusqu'à l'éclosion. Le tableau ci-dessous et la figure XXIV donnent les résultats d'une de ces expériences. La figure XXIII donne

⁽¹⁾ Les quantités absolues d'Oxygène absorbé étant dans ces expériences beaucoup plus petites, on peut se demander si la précision des mesures n'en est pas affectée. L'examen des chiffres fournis par les différents manomètres dans une même expérience montre cependant que la variation n'excède pas 5 à 7 %.

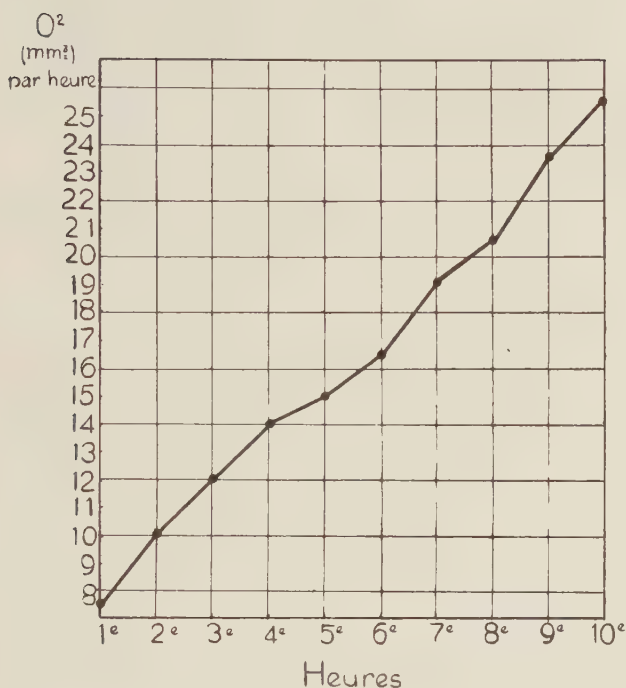


Fig. XXIII. — Variation de l'intensité respiratoire au cours du développement de l'œuf jusqu'à la larve nageante.

l'évolution de l'intensité respiratoire (mm³ d'oxygène par heure). Ces figures montrent l'allure générale du phénomène. On voit que l'intensité respiratoire croît régulièrement durant le développement et dès la fécondation. L'oxygène absorbé durant la première division (pointillé, fig. XXIV) représente à peu près 5% de la consommation totale. Il n'est donc point étonnant que les variations de la consommation que nous avons observées au début du développement ne se retrouvent plus à la fin : une variation de $\pm 50\%$ à la première division ne correspond plus qu'à 2,5% en fin d'expérience. Notre méthode ne peut plus déceler de telles variations.

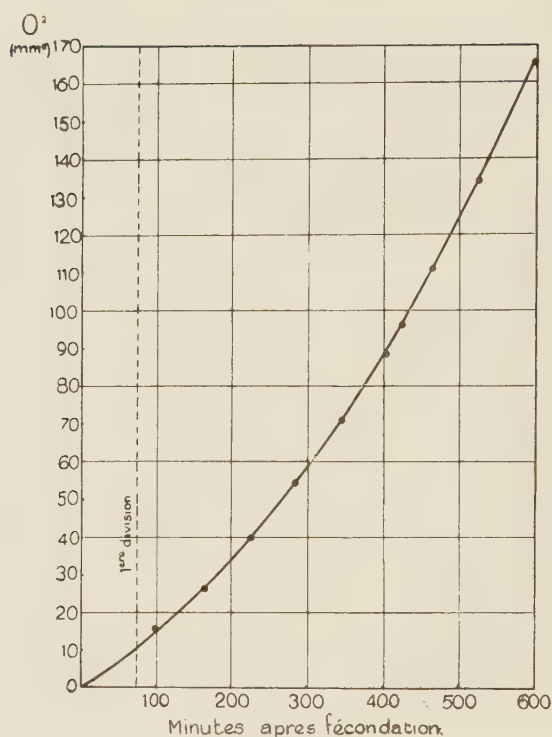


Fig. XXIV. — Absorption d' O_2 par les œufs au cours du développement jusqu'à la larve nageante.

5. — DÉTERMINATION DU QUOTIENT RESPIRATOIRE

Comme on vient de le voir, la consommation totale d'oxygène pendant le développement de l'œuf jusqu'au stade de larve nageante est pratiquement la même entre 10° et 23° . Mais on pouvait se demander encore si *qualitativement* les oxydations enregistrées sont comparables aux différentes températures. Il est évident que, comme je l'ai déjà fait remarquer plus haut, seule la combinaison de la calorimétrie avec l'analyse chimique est en état d'apporter des arguments décisifs à ce sujet. Cette méthode n'ayant pas pu être utilisée, j'ai dû encore une fois me contenter d'un

premier renseignement fourni par la détermination du quotient respiratoire.

Dans une première série d'expériences, j'ai déterminé le quotient respiratoire dans les conditions suivantes. Dans chacun des thermostats je plaçais : *a*) un manomètre servant de thermo-baromètre ; *b*) un ou deux manomètres servant à la détermination de l'oxygène consommé ; *c*) un ou deux manomètres servant à la détermination du CO² total, et *d*) un manomètre servant à la détermination du CO² préformé.

La détermination de l'oxygène consommé ne diffère en rien de celle décrite dans les paragraphes précédents.

Dans les manomètres *c*) et *d*) j'introduisais le même volume d'œufs, mais dans le compartiment latéral je mettais (à la place de NaOH) de l'acide H²SO⁴ 5 N. Au moment où les œufs témoins placés dans le barboteur se divisaient en deux, je fermais, comme d'habitude, les manomètres et en plus je faisais couler l'acide du manomètre *d* sur les œufs. L'augmentation de pression qu'on observait très rapidement, permettait la détermination du CO² préformé, c'est-à-dire du CO² contenu au départ dans les œufs et dans l'eau de mer.

A la fin de l'expérience je faisais la même manipulation avec les manomètres *c*. Le calcul du CO² total dégagé était alors possible à l'aide de la formule :

$$x = K_{II}^{CO_2} \cdot \left(h_{II} + \frac{h_I \times K_I^{O_2}}{K_{II}^{O_2}} - \frac{h_{III} \times K_{III}^{CO_2}}{K_{II}^{CO_2}} \right)$$

Le tableau suivant donne les chiffres d'oxygène consommé, de CO² dégagé et des quotients respiratoires dans différentes expériences, pendant le développement du stade II jusqu'à l'éclosion de la larve.

T°	O ² consommé	CO ² dégagé	Q R
10°1	72,4	58,2	0,80
12°1	73,8	62,4	0,84
17°3	70,3	56,3	0,8
17°5	148,8	109,2	0,73
22°5	72,8	60,1	0,82
22°8	80,0	66,0	0,82
23°0	50,3	40,3	0,8
23°15	139,2	106,7	0,77
25°0	85,9	67,7	0,79

L'inspection des chiffres ci-dessus permet de constater que la valeur du quotient respiratoire, oscillant autour de 0,8, reste sensiblement constante tout le long de l'échelle thermique. Cette valeur correspond au quotient qu'on devrait observer dans les combustions complètes de graisses et protéïques et nous savons, en effet, que ce sont les graisses et les protéïques qui disparaissent graduellement au cours de la période de développement étudiée ici (voir chapitre I).

Il s'agit de remarquer toutefois que l'œuf en développement est certainement le siège de synthèses variées et c'est pourquoi on ne peut pas se considérer comme autorisé à tirer, des valeurs des quotients respiratoires, des conclusions au sujet de la nature des substances brûlées.

Quoique j'aie fait remarquer plus haut que seul un bilan chimique et calorimétrique pouvait apporter des données rigoureuses concernant le rendement énergétique du développement, je crois pouvoir conclure, en ce qui concerne la question posée, que le quotient respiratoire ne variant pas dans la zone des températures expérimentées, il est extrêmement probable que, les processus du développement aux différentes températures ont emprunté l'énergie nécessaire aux mêmes mécanismes chimiques. Ceci est d'autant plus vraisemblable que, comme nous allons le voir un peu plus bas, les quotients respiratoires qu'on trouve au début ou au milieu du développement, sont identiques aux quotients respiratoires globaux trouvés en fin de développement.

SHEARER (1922), WARBURG (1915) et RAPKINE (1927) ont déjà fait, avant moi, des déterminations du quotient respiratoire de l'œuf d'Oursin en voie de développement. SHEARER a obtenu des quotients respiratoires 0,9-0,95 pendant la première heure du développement de l'œuf. Le chiffre obtenu par WARBURG est 0,9, c'est-à-dire voisin de celui de SHEARER, mais l'auteur n'indique pas dans son mémoire à quel moment précis les déterminations ont été faites. Enfin, RAPKINE, se servant de dosages chimiques, a déterminé l'évolution du quotient respiratoire pendant les premières 40 heures du développement de l'œuf. D'après RAPKINE, le quotient respiratoire monte dès le début du développement et jusqu'à la 5^e heure, moment auquel il atteint la valeur de 4, après quoi il baisse pour atteindre l'unité, ou même une valeur légèrement inférieure, à la 13^e heure. En somme pendant la période de développement que j'ai étudiée, RAPKINE observa des quotients respiratoires variant entre 2 et 4.

J'ai cherché à m'expliquer ce désaccord entre nos chiffres et dans ce but j'ai fait les expériences suivantes :

1) On pouvait se demander si, déterminant le CO₂ total à la fin du développement (c'est-à-dire au moment de l'éclosion de la larve), je ne déterminais pas un quotient respiratoire moyen, laissant échapper des quotients respiratoires plus élevés au début du développement. Dans trois expériences j'ai déterminé le quotient respiratoire à des stades plus précoces et correspondant à ceux où RAPKINE observait les quotients respiratoires les plus élevés. Les résultats de ces expériences furent les suivants :

Expérience 11 : 23°15. — Détermination faite 3 h. 20 m. après la fécondation de l'œuf (St. 32-64). QR trouvé = 0,85.

Détermination faite 6 heures après la fécondation. QR = 0,8.

Expérience 12 : 12°1. — Détermination faite 8 heures après la fécondation. QR = 0,9.

Expérience 22 : 20°5. — Détermination faite 6 heures après la fécondation. QR = 0,71.

Les chiffres obtenus à des stades de développement plus précoces concordent donc sensiblement avec les chiffres globaux obtenus pour l'ensemble du développement du stade II jusqu'à l'éclosion de la larve.

2) On pouvait d'autre part se demander si l'accumulation du CO^2 où l'abaissement de la tension d'oxygène dans les récipients d'un volume relativement faible n'influencait pas l'intensité respiratoire. Mais la comparaison des chiffres obtenus dans les différentes expériences dans lesquelles le volume total du liquide et de l'atmosphère gazeuse restaient constants et où variait seule la quantité d'œufs, des expériences ou, par conséquent, la tension de CO^2 et l'oxygène variaient d'une manière entièrement différente, montre que ces facteurs n'ont certainement pas faussé les résultats de mes mesures.

3) Enfin, les mesures de CO^2 dégagé et de l'oxygène absorbé, se produisant dans deux manomètres différents, on pouvait se demander si les chiffres obtenus n'étaient pas faussés par le fait que dans l'un seulement de ces manomètres on faisait une absorption continue de CO^2 (pour la mesure d'oxygène).

Pour répondre à cette dernière objection j'ai fait deux expériences dans lesquelles je déterminais l'oxygène et le CO^2 dans un même manomètre.

Comme d'habitude les œufs étaient introduits dans le grand compartiment du flacon. L'acide était placé dans le compartiment central et la soude dans le diverticule latéral.

Le CO^2 préformé était déterminé comme d'habitude dans un manomètre spécial, avec cette différence que dans ces expériences ce manomètre aussi contenait de la soude. Je mélangeais la soude avec les œufs d'abord, puis je faisais couler l' H^2SO^4 . J'obtenais ainsi le CO^2 des œufs, de l'eau de mer et des carbonates de la solution de NaOH .

A la fin de l'expérience, après lecture de la baisse de pression (détermination du O^2), je mélangeais de même les contenus des 3 compartiments du flacon en expérience. J'obtenais ainsi le CO^2 total dans le même récipient qui

avait servi à la détermination de l'oxygène. Les quotients respiratoires trouvés dans ces expériences sont les suivants :

<i>Expérience</i> 23	20°5	0,78
<i>Expérience</i> 28 I	18°15	0,84
<i>Expérience</i> 28 II	18°15	0,84

Comme on voit les quotients respiratoires obtenus par ce nouveau procédé sont tout à fait semblable à ceux obtenus par le procédé classique.

La comparaison des chiffres absolus de l'intensité respiratoire montre que les chiffres trouvés par WARBURG, RAPKINE et moi-même sont assez concordants lorsqu'on examine l'absorption d'oxygène. La cause de la discordance des quotients respiratoires trouvés par RAPKINE et moi-même est donc à chercher dans la méthode de détermination du CO_2 dégagé. Comme j'ai indiqué plus haut, la détermination du chiffre du CO_2 total comporte, lorsqu'on se sert de la méthode manométrique, la détermination du CO_2 préformé, se composant du CO_2 contenu au départ dans l'eau de mer et dans les œufs. Cette opération serait inutile si les quantités de CO_2 contenues dans l'eau de mer et dans les œufs étaient pareilles à la fin et au début. Or, RUNNSTROM a montré qu'au cours des premiers stades du développement un acide se forme dans les œufs et que cet acide, plus fort que l'acide carbonique, déplace ce dernier.

Ce fait semble pouvoir expliquer, à mon avis, les chiffres trop élevés trouvés par RAPKINE pour le CO_2 total (et, par conséquent pour le QR). La méthode de RAPKINE consiste en effet à chasser de l'air en équilibre avec l'eau de mer, d'une part à travers le flacon contenant les œufs, d'autre part à travers un flacon témoin contenant de l'eau de mer. Ce flacon témoin enregistre par conséquent les variations de la teneur en CO_2 de l'eau de mer dues aux variations de la pression atmosphérique et de la température. Par contre ce flacon n'enregistre point les variations de la tension de CO_2 sous l'influence de l'activité des œufs et, surtout, les variations de la teneur en CO_2 des œufs même.

Dans ces conditions, et si les constatations de RUNNSTRÖM sont exactes, il devient extrêmement probable que les chiffres observés par RAPKINE sont faussés par excès du fait de l'entraînement du CO_2 non respiratoire.

C'est la seule hypothèse qui me semble permettre d'expliquer la différence entre les quotients respiratoires trouvés par RAPKINE d'une part, WARBURG, SHEARER et moi-même d'autre part. Il convient toutefois de faire remarquer à cet endroit que RAPKINE lui-même explique les valeurs très élevées des quotients respiratoires qu'il a obtenu par l'intervention de CO_2 non respiratoire.

6. — LE COEFFICIENT DE TEMPÉRATURE DES OXYDATIONS.

Pour déterminer le Q_{10} des oxydations respiratoires sans tomber dans le défaut de LÖEB et WASTENEYS (voir plus haut, p. 115) il faut étudier leurs variations en fonction de la température pendant une période du développement pendant laquelle l'intensité des échanges ne varie pas. Une telle occasion nous est offerte, selon les indications de RAPKINE, qui a étudié l'évolution de l'intensité respiratoire chez l'œuf de la même espèce que la nôtre, à partir de la 24^e heure du développement. L'intensité respiratoire qui jusqu'alors croît régulièrement, atteint un plateau et se maintient à ce niveau jusqu'à la 40^e heure.

J'ai donc réalisé un élevage d'œufs d'Oursin dans des barboteurs (à 18°) jusqu'à 24 heures après la fécondation, c'est-à-dire jusqu'au stade de gastrula nageante (début de la formation du mésenchyme). A ce moment j'ai réparti en plusieurs manomètres des volumes égaux d'eau contenant les larves et j'ai mesuré la consommation d'oxygène à différentes températures.

Pour travailler toujours avec les mêmes lots de larves, j'opérais encore dans 2 thermostats. Dans l'un de ceux-ci j'opérais successivement à 16,8, 14°4 et 10°3, dans l'autre à 22°45, 23°3 et 24°. L'absorption d'oxygène était mesurée dans chaque cas dans 3 manomètres et pendant une durée

de 1 h. 30 à 2 heures. Enfin, ces mesures terminées, j'ai refait une mesure à 23°3 pour m'assurer que l'intensité respiratoire n'avait vraiment pas varié; je retrouvais, en fait, le même chiffre à 2,3% près (21,5 et 22 mm³ par heure).

Les résultats de cette expérience sont consignés dans le tableau suivant, qui indique en plus des valeurs (en mm³) de l'oxygène consommé par heure par les mêmes lots de larves, la variation en % (la valeur de la consommation à 22°45 étant pris pour unité) et les coefficients de température correspondants.

T°	Oxygène absorbé par heure (en mm ³)	Variation %	Q ₁₀
10,2	5,0	— 75,8	5,7 3,76 2,04 1,66 1,65
14,4	10,4	— 49,7	
16,8	14,3	— 30,9	
20,8	19,00	— 8,2	
22,45	20,7	0	
23,3	21,7	+ 4,8	1,65
24,0	22,35	+ 8,0	

J'ai déjà dit plus haut que les Q₁₀ des oxydations obtenus par LœB et WASTENEYS ne peuvent pas être considérés comme très précis à cause de l'augmentation de l'intensité respiratoire au cours du développement. Dans ces conditions la signification même des Q₁₀ mesurés à la fin et au début du développement n'est plus exactement la même.

Si malgré ces réserves on confronte les chiffres obtenus aux deux moments différents du développement, on obtient le tableau ci-dessous.

Les chiffres cités ont été obtenus de la manière suivante : dans 4 expériences destinées à mesurer la consommation totale au cours du développement jusqu'au stade II, j'ai trouvé les données nécessaires pour déterminer la quantité d'oxygène absorbé par les œufs à 24° lorsque le lot témoin placé à une autre température atteint le stade II. Ceci me permet la détermination du Q₁₀ dans 4 intervalles thermiques. D'autre part, la courbe de la figure XXV représen-

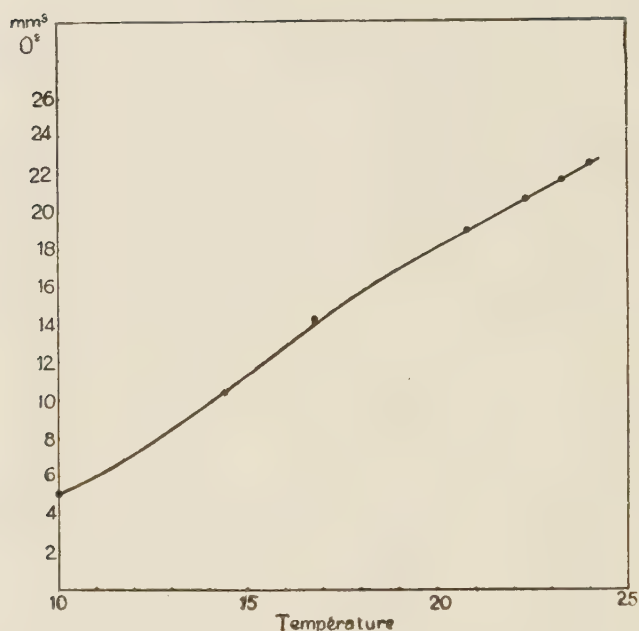


Fig. XXV. — Oxygène consommé par heure par des gastrulas à différentes températures.

tant l'augmentation de l'absorption d'oxygène par des gastrulas, me permet de déterminer alors les valeurs suivantes :

Intervalle	Q_{10} resp. œufs	Q_{10} resp. blast.
10,4 -22,4	3,85	2,36
12,9 -22,4	3,28	2,57
14,9 -22,4	2,18	2,32
16,75-22,4	1,88	1,88

On voit que tandis que chez les larves, dont les échanges sont « stabilisés » le Q_{10} varie peu autour de 2 et diminue peu lorsque la température monte, chez les œufs au début du développement les Q_{10} varient beaucoup plus et atteignent aux basses températures des valeurs sensiblement plus élevées. Ceci est conforme à ce que nous avons dit plus haut : aux jeunes stades la signification des Q_{10} des oxydations

est complexe car la valeur se compose du Q_{10} réel des oxydations plus le Q_{10} de l'*augmentation de l'intensité* respiratoire, liée probablement à l'augmentation de l'hétérogénéité du système.

La comparaison des valeurs consignées dans la 3^e colonne de ce tableau avec celles du tableau précédent, montre en outre, conformément à ce qui a été dit p. 66, combien les valeurs absolues des Q_{10} dépendent de l'intervalle thermique que l'on considère.

Tous ce que nous savons au sujet du chimisme des stades du développement étudiés semble indiquer que ce sont les mêmes substances qui brûlent aux 2 phases du développement que nous venons d'étudier. Les Q_{10} des oxydations *réels* ont donc toutes les chances d'être comparables. Et si les valeurs que nous venons de relever sont si différentes, ce n'est là qu'une preuve de ce que nous avons dit au début de ce travail, à savoir que ces processus identiques peuvent présenter des Q_{10} très différents selon le milieu — plus ou moins hétérogène — dans lequel ils se produisent.

RÉSUMÉ

L'étude des échanges respiratoires des œufs fécondés m'a fourni les résultats suivants :

1^o La consommation totale d'oxygène au cours du développement du stade II à la larve libre ne varie point entre 10° et 23°. Elle monte légèrement à des températures supérieures, mais il n'est pas certain que le développement à ces températures élevées pourrait être poussé très loin.

2^o La consommation d'oxygène pendant le développement de la fécondation au stade II varie très largement avec la température.

3^o La fixité de la consommation totale d'oxygène au stade plus avancé du développement s'explique par l'augmentation de l'intensité respiratoire au cours du développement.

4^o La détermination du quotient respiratoire par la

méthode manométrique fournit des résultats analogues à ceux déjà obtenus par WARBURG et SHEARER. La valeur trouvée (0,85) n'est pas influencée par les variations de la température.

Conclusions générales

Le caractère essentiellement analytique de ce travail rend extrêmement difficile, sinon impossible, un résumé, point par point, des résultats acquis. Dans la mesure des possibilités un tel résumé a été donné à la fin de chaque chapitre. Je pense qu'une manière plus suggestive de revoir l'ensemble de mes résultats sera la révision des principales anomalies produites dans le développement de l'œuf par l'action de la chaleur.

Nous avons vu que, pour l'œuf d'Oursin, j'ai été amené à distinguer, au delà de la température optima, au moins deux zones de températures : une première où une partie au moins des modifications produites restent réversibles (zone des températures minima mortelles) et une autre où la totalité, je crois, des modifications sont irréversibles.

Il faut ajouter cependant qu'une pareille classification ne peut être exacte que si l'on introduit le temps : dans la zone des températures minima mortelles on peut en effet produire des modifications irréversibles en prolongeant le temps de chauffage. Mais ici il s'agit d'introduire une définition précise de ce que l'on veut entendre par réversibilité, ce terme étant employé la plupart du temps dans un sens impropre.

On trouvera sans doute dans cette étude des exemples de réversibilité vraie, au sens thermodynamique du mot, si l'on s'adresse aux modifications d'états les plus simples. On conviendra sans doute que l'agglomération des chromosomes appartient à ce type d'altérations réellement réversibles car nous avons vu que leur redissolution dans le suc nucléaire suffit pour qu'ils réapparaissent normaux à la mitose suivante.

Les troubles de la viscosité protoplasmique, dont nous avons soupçonné le rôle décisif dans le déterminisme de plusieurs anomalies, sont sans doute également réversibles, dans le sens où ce mot est employé par les physiciens. Seulement il s'agit de noter ici que tous les cas de réversibilité vraie que nous pourrions découvrir dans ce travail seront caractérisés par le fait que cette réversibilité n'est pas instantanée, qu'elle exige au contraire un certain temps après le retour des conditions initiales. Enfin dans un cas comme celui de l'évolution de la chromatine cytoplasmique, se trouvant tantôt à l'état diffus, tantôt à l'état figuré de grains, la réversibilité de la modification, réelle peut-être dans son essence, semble liée à l'évolution de l'ensemble du système : nous avons vu en effet que la disparition de l'excès de ces grains, apparus lors du chauffage, est lié à la fécondation. On doit se demander dans ces conditions si le terme de réversibilité est encore applicable ici. Si par la suite je me décide à le maintenir ce n'est que par scrupule de créer des termes nouveaux.

Mais avant de finir avec cette question de réversibilité, examinons encore un autre cas : les anomalies telles que nous les avons vu apparaître sous l'action d'une température minima mortelle chez l'œuf fécondé et en pleine division. J'ai donné plus haut la description détaillée de ces anomalies et du mécanisme cytologique de leur « réversibilité » ; cette description, si l'on s'en souvient, suffit pour montrer que la « voie de retour » (qui conduit d'ailleurs l'œuf non pas à l'état initial mais simplement à un état *plus normal*), n'est en rien semblable à la « voie aller », c'est-à-dire qu'on a affaire ici non point à une réversibilité vraie mais plutôt à une sorte de régulation.

Ceci étant dit, examinons les anomalies des premiers stades du développement, telles que nous les avons décrites dans le deuxième chapitre, et spécialement celles qui apparaissent sous l'action des températures minima mortelles, ou, ce qui revient au même, sous l'action des températures un peu plus élevées mais agissant par un temps très court.

D'une manière générale ces anomalies peuvent être classées en trois catégories :

1° Anomalies provoquées par la modification des structures ou des propriétés protoplasmiques.

2° Anomalies dues à l'inégale sensibilité des différents constituants.

3° Anomalies dues à l'accélération inégale ou à l'apparition d'hétérochronies.

Comme exemple du premier genre nous pouvons prendre les anomalies dues à l'apparition des asters accessoires. Si les œufs chauffés au stade diaster sont transportés dans l'eau froide à la fin du premier cycle de mitoses abortives, l'intervention d'asters accessoires (où la polycentrie causée par la subdivision de l'un des centres) provoque la division nucléaire en plus que deux parties et, par suite, la reconstitution de trois ou quatre noyaux. C'est autour de ceux-ci que se séparent plus tard un nombre correspondant de territoires cytoplasmiques qui découpent ainsi l'œuf en un nombre anormal de blastomères. Cette deuxième partie du phénomène, la séparation de territoires cytoplasmiques autour de plusieurs noyaux issus de la première mitose de segmentation, se fait d'ailleurs avec un certain retard sur la division nucléaire elle-même. De ce fait, elle entre, d'autre part, dans la deuxième catégorie d'anomalies définies plus haut : le retard de la plasmodiérèse sur la caryodiérèse est en effet le résultat de l'inégale sensibilité des deux mécanismes à un même facteur, l'élévation de la température.

La paralysie du cytoplasme, malgré le transport dans l'eau froide, est d'autre part un exemple de réversibilité lente d'une modification protoplasmique.

Comparons maintenant les altérations provoquées par un même facteur très exactement dosé, mais agissant à des moments différents du cycle mitotique. Nous avons mis en évidence l'existence de deux phases sensibles : la prophase, dont la sensibilité à la chaleur se révèle par un retard à la division, et l'anaphase. La sensibilité de cette dernière se

manifeste non pas par un simple retard à la division qui, en elle-même, reste normale, mais par des anomalies de cette division. Comment expliquer cette différence ? Elle s'explique très bien, me semble-t-il, par le fait même souligné plus haut, à savoir que le mécanisme lésé n'est pas le même dans les deux cas : dans le cas de la prophase nous agissons sur un mécanisme protoplasmique régissant l'évolution nucléaire ; ce mécanisme étant altéré, la division n'a pas lieu. L'évolution nucléaire est bloquée en même temps que l'activité protoplasmique. Mais comme ce mécanisme est lentement réversible, on observe au bout de quelque temps la reprise de l'activité protoplasmique et *par suite* de l'activité nucléaire. Pendant ce temps les modifications éventuelles de la viscosité s'effacent également ; on arrive ainsi à une reprise de la segmentation, tardive mais morphologiquement normale.

Tout autre est le sort des œufs chauffés pendant l'anaphase ; ici l'action de la chaleur n'arrête plus les mécanismes de la mitose. La division de la cellule devrait se produire quelques minutes après le chauffage et dans ce temps la viscosité altérée, dont la réversibilité est également lente, n'a plus le temps de se rétablir. Il en résulte des anomalies de constitution. Ces faits prouvent également qu'à partir d'un certain moment, la constitution de la mitose probablement, l'édifice mitotique jouit par rapport à l'ensemble du système d'une très grande liberté.

De l'inégale sensibilité du protoplasme et du noyau résulte toute l'activité cyclique des œufs chauffés pendant le stade diaster : nous avons vu qu'un noyau reconstitué après destruction de la figure mitotique donne naissance à une mitose normale (abstraction faite de la polycentrie) mais que cette deuxième mitose suit le sort de la première parce que la division protoplasmique demeure bloquée. Elle reste d'ailleurs bloquée encore après le transport dans l'eau froide, ce qui témoigne de la lenteur de la réversibilité de cette altération ; il en résulte la destruction de la figure mitotique chez des œufs chauffés et se trouvant déjà depuis quelque temps dans l'eau froide.

La formation des caryomérîtes telle que nous l'avons vu apparaître dans quelques œufs chauffés pendant le stade diaster à une température de 31°-32° et dans la totalité presque des œufs chauffés au même stade à une température plus élevée (34°), représente pour nous le troisième type d'anomalies : celles dues à l'inégale accélération des différents mécanismes. Normalement la formation des caryomérîtes précède l'étranglement du corps protoplasmique ; à 26° ces deux phénomènes se produisent presque synchroniquement ; enfin, sous l'action de la chaleur, la formation des caryomérîtes peut se produire longtemps avant la plasmodiérèse qui peut même manquer complètement. Par rapport à l'évolution de l'ensemble de la figure mitotique, il en est de même : tandis que dans les conditions normales la formation des caryomérîtes coïncide avec la fin de la mitose, sous l'action de l'élévation de la température et par suite d'une plus forte accélération, la « dissolution » des chromosomes peut avoir lieu déjà au début de l'anaphase. Malheureusement dans les zones de température dont il est question, la notion de coefficient de température perd tout sens réel grâce à l'intervention des modifications de l'état protoplasmique et nous ne sommes pas en état de vérifier avec la précision désirée l'hypothèse d'accélération inégale ; mais ce que nous avons vu dans les zones de températures plus basses, à savoir que les différents processus qui constituent le mécanisme complexe de la mitose subissent sous l'action de l'élévation de la température des accélérations très diverses, et un argument sérieux en faveur de cette hypothèse.

Ainsi nous avons passé en revue les principaux types des altérations observées sous l'action de la chaleur. Suivons maintenant pendant un instant le sort ultérieur des œufs. Ici encore nous pouvons classer les observations en trois catégories bien définies.

a) A une première catégorie appartiennent les œufs chauffés à des températures minima mortelles pendant un temps relativement court : les modifications produites par

la chaleur et les légères anomalies qui en résultent sont ici complètement réversibles. Au bout de peu de temps il n'en reste que des traces sous forme, par exemple, d'un nombre légèrement anormal de blastomères ou de troubles de la polarité de quelques mitoses au début de la segmentation. Ces quelques traces disparaissent rapidement au cours des divisions suivantes et on aboutit, en fin de développement, à des larves parfaitement normales.

b) Dans une deuxième catégorie se placent les œufs qui ont été chauffés à des températures minima mortelles pendant un temps plus prolongé. Les modifications produites dans ces conditions sont encore réversibles. Les œufs se segmentent après retour dans l'eau froide. Dans quelques cas un réveil de l'activité peut se produire, même après un arrêt complet de celle-ci, quand l'œuf est transporté dans l'eau froide. Et malgré cela cette nouvelle activité amène l'œuf à la mort. Ici la mort des larves s'explique probablement par des répercussions des anomalies produites sur le système entier, pertes de territoires cytoplasmiques entiers sous forme d'extraovats, déplacement de matériaux ovulaires, distribution anormale des matériaux nucléaires, etc... Il faut placer ici également les conséquences d'hétérochronies telles que nous les avons observées, par exemple aux hautes températures, entre l'évolution morphologique des larves et la consommation d'oxygène, — expression de leur activité physiologique.

c) Enfin à la troisième catégorie appartiennent les œufs chauffés à des températures assez élevées (au delà de 33°-34°) et pendant un temps suffisant pour provoquer une altération plus profonde du protoplasme. Si ces œufs évoluent encore pendant peu de temps après le retour des conditions normales, leur activité est ici une activité abortive qui se produit *malgré* l'altération du protoplasme. La cause de la mort réside non pas dans les anomalies fournies par cette activité mais dans les modifications de l'état du protoplasme.

Que les anomalies du développement produites par la

chaleur relèvent de l'un ou l'autre des mécanismes décrits, que leur réversibilité soit réglée d'une manière ou d'une autre, elles témoignent toutes de la grande indépendance des organes et des mécanismes cellulaires lors de la mitose ou, d'une manière plus générale, au cours des premiers stades du développement. Abstraction faite des anomalies de la segmentation, cette grande indépendance nous a été révélée par la détermination des coefficients de température des différentes phases du cycle cellulaire ainsi que par l'étude des échanges respiratoires de l'œuf. Et cette dernière nous a montré en plus que l'indépendance des différents mécanismes, dont l'ensemble constitue l'ontogenèse, diminue à mesure que le développement progresse.

Index bibliographique

- ACHARD, G. — *Arch. de Phys. Biol.*, 1925, t. IV, p. 184.
 ALBERTI, W. et POLITZER, G. — *Arch. f. micr. Anat. und Entw.-Mech.*, 1924, Bd. 103, p. 284.
 ARRHENIUS, Swante. — *Zeitsch. f. phys. Chem.*, 1889, t. IV, p. 226.
 ID. — *Immunochemie*, Leipzig, 1907.
 BARTHÉLEMY et BONNET. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, t. VIII, p. 1071.
 BERTHELOT, M. — *Ann. de Chim. et de Physique*, 1862, t. 66, p. 110.
 BIERRY et GRUZEWSKA. — *C. R. Acad. Sciences*, 1912, t. 155, p. 1559.
 BINCHAM, E. C. — *Zeit. f. Phys. Chemie*, 1909, t. 66, p. 238.
 BRACHET, A. — L'œuf et les facteurs de l'ontogénèse, Paris, Doin, 1917.
 ID. — *Arch. de Biol.*, 1922, t. XXXII.
 BUCCIANTE, L. — *Arch. f. Exp. Zellforsch.*, 1927.
 BURY, Janina. — *Arch. f. Entw.-Mech.*, Bd. XXXVI, 1913.
 CHAMBERS, R. — *Journ. of Exp. Zool.*, 1917, vol. XXIII, p. 483.
 ID. — The physical structure of protoplasm as determined by microdissection and injection. In *General Cytology*, edited by Cowdry, 1924.
 CROZIER, W. J. — *Journ. Gen. Phys.*, t. VII, n° 2, nov. 1924.
 CROZIER, W. J. and FEDERIGHI, H. — *Journ. Gen. Physiol.*, vol. VII, n° 1, p. 137-150, 1924.
 ID. — *Journ. of Physiol.*, 1925, vol. VII, p. 565-570.
 DALCO, A. — *Arch. de Biol.*, 1923, t. XXXIII.
 ID. — *Arch. de Biol.*, 1924, t. XXXIV.
 ID. — *Bull. des Annal. de la Soc. Roy. des Sc. Med. et Nat. de Bruxelles* 1927, p. 83.
 ID. — *C. R. Assoc. des Anat.*, 1927.
 ID. — Les bases physiologiques de la fécondation et de la parthénogénèse. Presses Universitaires de France, 1928.
 ID. — *Arch. de Biol.*, 1931, t. 41, p. 143.
 DANCHAKOFF, V. — *Journ. of Morph.*, 1916, t. 27, p. 559.
 DELLA VALLE, P. — *Arch. Zool.*, 1912, vol. VI.

- DEMOOR, J. — *Arch. de Biol.*, t. 12, 1893.
- DRAGOIU, VLÈS et ROSE. — *C. R. As. Sc.*, 1913, t. 176, p. 109.
- DRIESCH, H. — *Zeits. f. Wiss. Zool.*, 1893, t. 55, p. 1.
- EPHRUSSI, Boris. — *C. R. Ac. Sc.*, 1923, t. 177.
- Id. — *C. R. Soc. Biol.*, 1924, t. 91.
- Id. — *C. R. Soc. Biol.*, 1924, t. 91.
- Id. — *C. R. Soc. Biol.*, 1924, t. 91.
- EPHRUSSI, B. et RAPKINE, L. — *Ann. de Phys. et de Phys.-Chimie biol.*, 1928, n° 3, p. 386.
- FAMULENER et MADSEN. — *Biochem. Zeit.*, 1908, t. II, p. 186.
- FAURÉ-FREMIET, E. — *Arch. d'Anatomie micros.*, vol. XV, 1913.
- Id. — *Arch. Anat. micr.*, 1924, t. XX, p. 221.
- Id. — La Cinétique du développement. Les Presses Universitaires de France, 1925.
- GRAY, J. — *Proceed. Cambridge Phil. Soc.*, 1925, t. I, p. 225.
- HEILBRUNN, L. V. — *Journ. Exp. Zool.*, v. 30, 1920.
- Id. — *Journ. Exp. Zool.*, 1921, vol. XXXIV, n° 3.
- Id. — *Amer. Journ. Phys.*, 1924, t. 69, p. 190.
- Id. — *Amer. Journ. Phys.*, 1924, vol. 68.
- Id. — *Journ. Exp. Zool.*, vol. 41, n° 3, p. 273-259, 1925.
- Id. — *Science*, vol. LXII, n° 1603, 1925.
- Id. — *Journ. Exp. Zool.*, 1926, vol. 43, p. 313.
- HEILBRUNN, L. C. — The Colloid Chemistry of Protoplasm. Protoplasma Monographien. T. I. Borntraeger, Berlin, 1928.
- HENRI, V. (M^{me}) et HENRI, Victor. — *C. R. Soc. Biol.*, 1912, vol. LXII, p. 1084.
- HERLANT, M. — *Arch. Zool. Exp.*, 1918, t. 57 et 58.
- Id. — *Arch. Biol.*, 1920, t. 30.
- HERTWIG, O. — *Arch. micr. Anat.*, 1898, t. 51, p. 319.
- HERTWIG, P. — *Jenaische Zeitsch. Naturw.* Abt. II, 1911, p. 301.
- HERTWIG, G. — *Arch. f. Mikr. Anat.*, 1912, Abt. 2, Bd. 79.
- HERTWIG, R. et HERTWIG, O. — Ueber den Befruchtungs und Teilungsvorgang des thierischen Eies unter dem Einfluss äusserer Agentien. *Jenaische Zeitschrift*, 1887.
- HORSTADIUS. — *Quart. Biol. generalis.*, 1925, vol. I, p. 522.
- JOHANSEN und KROCH. — Conseil Intern. pour l'exploration de la mer. Publication de circonst., n° 68, 1914.
- JOLLY, J. — *Arch. d'Anat. Micros.*, 1904, vol. VI, p. 455.
- KANITZ, A. — *Zeitsch. phys. Chem.*, 1909, t. 70, p. 195.
- Id. — Temperatur und Lebensvorgänge. Berlin, 1915.
- KONOPACKI, M. — *Arch. Entw.-Mech.*, 1918, t. XLIV, p. 337.
- KREBS, H. A. — Stoffwechsel der Zellen und Gewebe *Method. wiss. Biol.*, 1928, t. II, p. 1048.
- KROGH, A. — *Zeits. f. allg. Phys.*, 1914, t. 16, p. 178.
- Id. — *Zeits. f. allg. Phys.*, 1914, t. 16, p. 163.
- Id. — *Biochem. Ztschr.*, 1914, vol. 62, p. 266.
- LACASSAGNE, A. et MONOD. — *Arch. fr. de path. gen. et exp. et d'anat. patho.*, 1922, t. I.
- LILLIE, R. S. — *Journ. Exp. Zool.*, 1908, vol. 5, p. 375.
- Id. — *Biol. Bull.*, 1915, vol. 28, p. 260.
- Id. — *Science*, n. s. 1918, vol. XLVII.
- LÆB, J. — *Arch. f. Entw.-Mech.*, 1895-1896, Bd. 2.
- Id. — *Pflug. Arch.*, 1908, t. 124, p. 411.
- Id. — Über den chemischen Charakter der Befruchtungsvorgangs und seine Bedeutung für die Theorie der Lebenserscheinungen. Leipzig, 1908.
- Id. — La fécondation chimique, Paris, 1911.

- LÆB, J. et WASTENEYS. — *Biochen. Zeit.*, 1911, t. 36, p. 345.
 LÆB, J. et WASTENEYS. — *Journ. of Exp. Zool.*, 1912, t. 12.
 LYON, E. P. — *Amer. J. Physiol.*, 1904, vol. II, p. 52.
~~MINIEMER.~~ —
 MARINESCO, N. — *C. R. Ac. Sc.*, 1929, t. 188, p. 1163.
 MASING. — *Zeit. Physiol. Chem.*, 1910, t. 67, p. 161.
 ID. — *Zeit. Physiol. Chem.*, 1911, t. 75, p. 135.
 MATHEWS, A. P. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1913, t. 14, p. 465.
 MATISSE. — *Arch. hist. de Physiol.*, 1921, vol. XVI, p. 461.
 MOORE, A. R. — *Arch. f. Entw.-Mech.*, 1910, t. 29, p. 146.
 MOSSA, A. — *C. R. Ass. des Anatomistes*, 21^e réunion, Liège, 1926.
 ID. — *Arch. f. Exp. Zellforsch.*, 1927, t. IV.
 NORMAN, W. W. — *Arch. f. Entw.*, vol. 3, 1896, p. 106-126.
 PAGE, J. H. — *Biol. Bull.*, 1927, t. III, p. 164.
 PANTIN, C. F. A. — *Journ. of the Marine Biol. Ass. Plymouth*, vol. XIII, n^o 2, 1924.
 PARAT, Marguerite. — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, t. XCVI, p. 1360.
 PERTHES. — *D. Med. Woch.*, 1909.
 PETER, K. — *Arch. f. Entw.-Mech.*, 1905, vol. 20, p. 130.
 ID. — *Zeit. f. Morph und Anthropologie*, 1924, Bd. XXIV, p. 23.
 POLICARD. — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, p. 228, 1912.
 POLICARD et MANGENOT. — *C. R. Ac. Sc.*, t. 174, p. 645, 1922.
 PUTTER, A. — *Zeitsch. f. d. allg. Physiol.*, 1914, t. 16, p. 579.
 RANDOUIN (M^{me}). — *Sucre libre et sucre protéique du sang*. Paris, Jouve et C^{ie} Ed., 1918.
 RAPKINE. — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, t. 97, p. 143.
 REGAUD, A. et BLANC. — *C. R. Soc. Biol.*, 1906, t. LVI, p. 390.
 REISS, P. — *C. R. Soc. Biol.*, 1925, vol. 92, p. 1403.
 ROGERS, C. R. — *Amer. Journ. Physiol.*, t. 28, p. 81, 1911.
 ROSE, DRAGOU et VLÈS. — *C. R. Acad. Sc.*, 1923, t. 176, p. 531.
 ROSSBACH. — *Verbandl. physik. mediz. ges. Würtzburg*, n^o 11, p. 171, 1872.
 SCHULTZE, O. — *Anat. Anz.*, 1895, t. 10, p. 291.
 SEREBROWSKY, A. — *Travaux de l'Université Chaniawsky*, Moscou, 1915, t. I, fasc. 1 (en russe).
 ID. — *Travaux de l'Université Chaniawsky*, Moscou, 1916, t. I, fasc. 3 (en russe).
 SHEARER, C. — *Proc. Royal Soc.*, 1922, t. 93, B p. 213.
 SKRABAL, A. — *S. Ak. Wiss. Wien*, 1916, Bd. 125.
 SMITH. — *J. am. Chem. Soc.*, 1919, t. 41, p. 143.
 SNYDER, Ch. D. — *Univ. of Cal. Publ. Physiology*, 1905, vol. 2, n^o 15, p. 125-146.
 ID. — *Amer. J. of Physiol.*, 1908, t. 22, p. 309.
 ID. — *Amer. J. of Physiol.*, 1909, t. 25, p. 27.
 ID. — *Amer. J. of Physiol.*, t. 28, p. 167, 1911.
 SNYDER, C. D. and TODD, M. H. — *Amer. J. Physiol.*, 1911, t. 28, p. 161-166.
 SPAULDING, G. — *Biol. Bull.*, 1904, t. VII, p. 224.
 STRANGEWAYS, T. S. P. and OAKLEY, H. E. H. — *Proc. Royal Soc.*, Bd. 95, 1923.
 TEISSIER, G. — *Bull. Soc. Zool. de France*, 1926, t. LI, p. 266.
 TERROINE et WURMSER. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1922, t. IV, p. 519.
 VAN'THOFF, J. H. — *Etudes de dynamique chimique*. Amsterdam, 1884.
 ID. — *Vorlesungen über theoretische und physicalische Chemie*, 1 Anfl. 1898.

- VLÈS et DRAGOIU. — *Arch. de Biol.*, 1921.
 VLÈS, DRAGOIU et ROSE. — *C. R. Acad. Sc.*, 1923, t. 176, p. 133.
 WARBURG, O. — *Biochem. Zeitsch.*, 1921, t. CXIX, p. 134.
 ID. — Métabolisme cellulaire et métabolisme des tumeurs (traduit par Aubel et Genevois). Paris, Alcan, 1928.
 WASSERMAN, F. — *Verb. der Anat. ges.* 1921 dans *Anat. Anzeig.*, t. 54, p. 163.
 ID. — *Sitzungsber. a. ges. f. Morph. u. Physiol.*, München, 1921.
 WETZEL. — *Arch. f. Anat. und Physiol.*, 1907, p. 527.
 ZAWADOWSKY, M. M. — Travaux de l'Université Chaniawsky, 1915, t. I, p. 114.
 ZAWADOWSKY, M. M. and SIDOROV, C. M. — *Transact. of the Laboratory of Exp. Biol. of the Zoopark of Moscow*, 1927, vol. III.

Explication de la planche

Fig. 1. — Œuf chauffé aussitôt après la fécondation. Irradiations monastériennes.

Fig. 2. — Agglomération des chromosomes dans un œuf chauffé pendant la métaphase.

Fig. 3. — Formation de vacuoles de suc nucléaire et dissolution des chromosomes dans un œuf chauffé pendant la métaphase.

Fig. 4, 5, 6. — Œuf à noyau reconstitué. Un sillon reste de la plasmodiérèse avortée. Renforcement progressif des asters périnucléaires.

Fig. 7. — Commencement d'une mitose du 2^e cycle. Disparition de la membrane nucléaire. A noter la présence d'un cytaster.

Fig. 8. — Mitose polycentrique du 2^e cycle. Deux cytasters.

Fig. 9. — Dédoulement d'un aster pendant la mitose.

Fig. 10. — Hétérochronisme dans l'évolution des deux blastomères issus de la division d'un œuf chauffé et transporté dans l'eau froide.

Fig. 11. — Destruction de la mitose par le chauffage de l'œuf à 33°. Formation des caryomerites.

DEUXIÈME THÈSE

Croissance et régénération dans les cultures des
tissus.

Vu et approuvé :

Paris, le 11 juillet 1932

*Pour le Doyen de la Faculté des Sciences,
L'Assesseur.*

J. PERRIN

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris.

S. CHARLÉTY



Auct. del.

